illumigene®

Group A *Streptococcus* (Group A Strep) DNA Amplification Assay

DNA Amplification Assay for the Detection of *Streptococcus pyogenes* in throat swab samples

REF **280150** IVD **In vitro diagnostic medical device**

INTENDED USE
The ***illumi****gene* Group A *Streptococcus* (Group A Strep) assay, performed on the ***illumi****pro-10*™, is a qualitative in vitro diagnostic test for the detection of *Streptococcus pyogenes* (Group A β-hemolytic *Streptococcus*) in throat swab specimens.

The ***illumi****gene* Group A Strep assay utilizes loop-mediated isothermal DNA amplification (LAMP)[1,2] technology to detect *Streptococcus pyogenes* by targeting a segment of the *Streptococcus pyogenes* genome. Results from the ***illumi****gene* Group A Strep assay can be used as an aid in the diagnosis of Group A Streptococcal pharyngitis. The assay is not intended to monitor treatment for Group A *Streptococcus* infections.

illumi*gene* Group A Strep is intended for use in hospital, reference or state laboratory settings. The device is not intended for point-of-care use.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST
The ***illumi****gene* Group A *Streptococcus* molecular assay is based on loop-mediated amplification (LAMP) technology. The assay targets a highly conserved 206 base pair (bp) sequence of the *Streptococcus pyogenes* genome residing in a region of the pyrogenic exotoxin B (speB) gene.

Loop-mediated amplification uses specially designed primers to provide for specific and continuous isothermal DNA amplification. A by-product of amplification is magnesium pyrophosphate, which forms a white precipitate leading to a turbid reaction solution. Reaction solution absorbance characteristics are monitored by the Meridian ***illumi****pro-10* Incubator/Reader. Changes in reaction solution absorbance characteristics created by precipitation of magnesium pyrophosphate indicate the presence of target DNA. The absence of target DNA results in no significant change in sample absorbance.

The ***illumi****gene* Group A Strep kit includes ***illumi****gene* Sample Preparation Apparatuses and ***illumi****gene* Group A *Streptococcus* Test Devices. The ***illumi****gene* Sample Preparation Apparatus II, used for specimen dilution and preparation, is filled with a buffered solution containing formalin treated *E. coli* harboring *Staphylococcus aureus* DNA. The ***illumi****gene* Group A Strep Test Device contains one lyophilized amplification reagent bead in each of two chambers: a TEST chamber with Group A *Streptococcus*-specific primers and a CONTROL chamber with *S. aureus*-specific primers. The *S. aureus* DNA in the Sample Preparation Apparatus and the *S. aureus*-specific primers in the CONTROL chamber function as the Internal Control for the assay. During specimen preparation, each patient specimen is added to the Sample Preparation Apparatus II and combined with the *S. aureus* DNA prior to amplification. Addition of *S. aureus* DNA to the patient sample allows for parallel processing of target DNA and Control DNA through amplification and detection. The Internal Control monitors amplification inhibition, assay reagent performance and sample processing effectiveness. The Control *S. aureus* target must be amplified and detected in the final reaction or the test is considered invalid and patient results are not reported.

The ***illumi****pro-10* monitors changes in absorbance characteristics by measuring transmission of light through the Test and Control reaction solutions. Lignt transmission is checked at the assay Run Start ($Signal_{initial}$, S_i) and at the assay Run End ($Signal_{final}$, S_f). The ***illumi****pro-10* calculates the change in light transmission between Run End and Run Start (S_f:S_i) and compares the ratio to a fixed cut-off value.

Fixed cut-off values for the TEST chamber are used to report sample results. TEST chamber S_f:S_i ratios less than 82% are reported as 'POSITIVE'; TEST chamber S_f:S_i ratios greater than or equal to 82% are reported as 'NEGATIVE'. *Numerical values are not reported.*

Fixed cut-off values for the CONTROL chamber are used to determine validity. CONTROL chamber S_f:S_i ratios less than 90% are considered valid and allow for reporting of TEST chamber results (POSITIVE, NEGATIVE). CONTROL chamber S_f:S_i ratios greater than or equal to 90% are considered invalid and prevent reporting of TEST chamber results. Invalid CONTROL chamber reactions are reported as 'INVALID'. *Numerical values are not reported.*

More stringent cut-off criteria are applied to the CONTROL chamber reaction to ensure amplification is not inhibited, reagents are performing as intended and that sample processing was performed appropriately.

BIOLOGICAL PRINCIPLES
Group A *Streptococcus*, or *Streptococcus pyogenes*, is a bacterium commonly found in the human throat or on skin. *S. pyogenes* causes a wide variety of diseases in humans, the most common being acute pharyngitis or strep throat. Pharyngitis is diagnosed in approximately 11 million patients in the United States each year, with Group A *Streptococcus* accounting for 15% - 30% of cases in children and 5% - 20% of cases in adults.[3] Streptococcal pharyngitis is often accompanied by sore throat, fever, tonsillar exudates and enlarged cervical lymph nodes.

Group A Streptococcus infections may result in mild illness (e.g. pharyngitis, impetigo) or may lead to invasive, life-threatening illness (e.g. cellulitis, bacteremia, necrotizing fasciitis, Streptococcal toxic shock syndrome). Approximately 25% of patients with necrotizing fasciitis will die from the infection; more than 35% of patients with streptococcal toxic shock syndrome will die from the infection.[4] *Streptococcus pyogenes* may also present in healthy, asymptomatic patients. Throat culture surveys of healthy children taken during school outbreaks have shown a carrier prevalence of up to 20%.[3]

Signs and symptoms of Group A *Streptococcus* pharyngitis often overlap with other infections, making laboratory diagnosis an important tool in identification and treatment of infection. Specimens for laboratory testing should be obtained by vigorous swabbing of both tonsils and the posterior pharynx.[5] Traditional laboratory diagnosis is performed by rapid antigen testing or culture on sheep blood agar followed by differentiation with latex agglutination.[5] Specificities of rapid antigen tests is variable and confirmation of negative results with follow-up throat swab culture is recommended.[5] Throat swab cultures may be 90 to 95% sensitive when correct sampling and plating techniques are used.[3]

Diagnostic tests such chemilumiscent DNA probes may be as sensitive as standard throat cultures on sheep blood agar.[5]

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED
The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.
1. ***illumi****gene* **Sample Preparation Apparatus II/Negative Control III (SMP PREP):** Tris-buffered solution containing formalin-treated *E. coli* harboring *S. aureus* DNA and sodium azide (0.09%) as a preservative.
2. ***illumi****gene* **Group A Strep Test Device:** Two-chambered device containing lyophilized amplification reagents (DNA polymerase, deoxynucleotide triphosphates) and either Group A *Streptococcus*-specific primers (TEST Chamber) or *Staphylococcus aureus*-specific primers (CONTROL Chamber)**.**
3. ***illumi****gene* **Heat Treatment Tubes**

MATERIALS PROVIDED SEPARATELY
illumi*gene* Group A *Streptococcus* (Group A Strep) External Control Kit, Catalog Number: 279910

MATERIALS NOT PROVIDED
1. Disposable latex gloves, powder free
2. DNase/RNase-free, aerosol resistant pipette tips
3. Specimen collection and transport system
4. Swabs, breakable plastic shaft: Rayon, Polyester or Flocked Nylon
5. Non-nutritive Transport Medium: Liquid Amies, without charcoal; Liquid Stuart

EQUIPMENT NOT PROVIDED
1. Dry-bath with 12 mm heat block capable of 95 C
2. Digital thermometer with Max/Min Temperature Memory (eg, Traceable® Lollipop™ Waterproof/Shockproof Thermometer)
3. Vortex mixer
4. Interval timer
5. Micropipette capable of dispensing 50 µL
6. ***illumi****pro-10*™*,* Meridian Bioscience, Inc. Catalog Number: 610172

PRECAUTIONS
1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Do not interchange Sample Preparation Apparatuses or Test Devices between lots. Heat Treatment Tubes are interchangeable provided they are within assigned expiration date when used.
3. Follow Biosafety Level 2 and Good Laboratory practices during testing.[6] Treat all specimens and used Test Devices as capable of transmitting infectious agents. Do not eat, drink or smoke in areas where specimens or kit reagents are handled.
4. Wear disposable gloves while handling specimens and thoroughly wash hands afterwards.
5. Quality Control Programs for Molecular Testing Laboratories, including proper use and care of equipment, should be employed.[7]
6. The ***illumi****gene* Group A Strep Test Device contains lyophilized reagents. The protective pouch should not be opened until ready to perform the assay.
7. The ***illumi****gene* Group A Strep Test Device includes a latch feature that is designed to prevent contamination of the test area with amplification product. Do NOT use Test Devices with broken latches.
8. Dispose of used ***illumi****gene* Test Devices immediately after processing, leaving the device latch securely in place. Do NOT open the Test Device after processing. Opening the device after amplification may result in contamination of the test area with amplification product.

RISK AND SAFETY PHRASES
There are no known hazards associated with this product.

SHELF LIFE AND STORAGE
The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-27 C.

REAGENT PREPARATION
Ensure kit reagents are at room temperature (21-27 C) before use. Incorrect results may be obtained if reagents are not brought to room temperature prior to use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION
Sample type: Throat swabs

Sample Collection: Throat sample collection should be performed in accordance with institutional guidelines for collection of clinical specimens for culture of Group A *Streptococcus*. Samples should be collected by vigorously swabbing the tonsils and the posterior pharynx.

Place swab(s) in a non-nutritive transport medium (e.g. Liquid Amies, without charcoal or Liquid Stuart) and transport to the laboratory. Samples should be held at 2-27 C during transport.

Samples may be held at 21-27 C for up to 48 hours prior to testing. When testing will not be initiated within this time, the sample may be stored at 2-8 C for up to seven days.

SPECIMEN PREPARATION
NOTE: Ensure that the ***illumi****pro-10* is powered on and required performance verifications have been completed prior to initiation of SPECIMEN PREPARATION. Refer to the ***illumi****pro-10* Operator's Manual for further information regarding instrument set-up and operation.

1. Add the throat swab to the ***illumi****gene* **SMP PREP**. Break off the handle of the swab. Replace and secure **SMP PREP** cap. Vortex the **SMP PREP** for a minimum of 10 seconds. Specimens in the ***illumi****gene* **SMP PREP** may be held at 2-29 C for up to 2 hours prior to heat treatment.
2. Remove the tip cap from the **SMP PREP** and squeeze five to 10 drops of sample into a clean ***illumi****gene* Heat Treatment Tube.
3. Repeat Sample Preparation Steps for all samples to be processed.
4. Heat each Sample/Control mixture in a dry-bath/heat block at 95 ± 5 C for 10 ± 2 minutes. Monitor heat-treatment step with digital thermometer and interval timer.
5. Remove each Heat Treatment Tube from the dry-bath/heat. Heat-treated samples may be held at 21-29 C for up to one hour prior to testing.

TEST PROCEDURE
NOTE: A maximum of 10 samples can be processed in a single ***illumi****pro-10* run.

1. Vortex heat-treated samples for approximately 10 seconds.
2. Remove 1 ***illumi****gene* Group A Strep Test Device from its protective pouch per sample. Carefully open the device, holding the chambers such that the lyophilized reagent will not fall out upon opening. Place device on a flat surface or in a rack that can accommodate the device.
3. Transfer 50 µL of the heat-treated sample to the TEST chamber (White Bead) of the ***illumi****gene* Test Device. Take care to not introduce extraneous air to the reaction mixture. Using a new pipette tip, transfer 50 µL of the heat-treated sample to the CONTROL chamber (Yellow Bead) of the ***illumi****gene* Test Device. Take care to not introduce extraneous air to the reaction mixture. Close the ***illumi****gene* Test Device and fasten the latch securely.
4. Tap device on the bench top or mix to remove air bubbles. Carefully examine the test device for dissolution of the Control/Test Bead, for air bubbles left in the tube and liquid in the top of the device. If undissolved beads, air bubbles or liquid is noted, tap the device on the bench top and repeat the visual inspection.
5. Insert the ***illumi****gene* Test Device into the ***illumi****pro-10* and initiate amplification reaction and detection. Results will be displayed at the conclusion of the run.

INTERPRETATION OF RESULTS

Sample ID	Reported Result	Interpretation
Patient Specimen	POSITIVE	Sample contains *Streptococcus pyogenes* target DNA.
	NEGATIVE	No *Streptococcus pyogenes* DNA detected.
	INVALID	**No reportable result. Repeat the test using the original sample.** Inhibitory patient specimen, improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Positive Control	POSITIVE	Valid positive control result. Reagents active at time of use, ***illumi****pro-10* performing correctly.
	NEGATIVE	**Incorrect control result.** Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	INVALID	**No reportable result. Repeat entire assay run using original samples.** Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Negative Control	POSITIVE	**Incorrect control result.** Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	NEGATIVE	Valid negative control result. Reagents active at time of use, ***illumi****pro-10* performing correctly.
	INVALID	**No reportable result. Repeat entire assay run using original samples.** Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
EMPTY WELL	NONE	No ***illumi****gene* Test Device in the ***illumi****pro-10* Well. **OR** The ***illumi****gene* Test Device present is compromised due to sample preparation failure, dirty device or improperly seated device. **Repeat the test using original sample.**

QUALITY CONTROL
This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

1. Each device contains an internal control chamber that controls for amplification inhibition, assay reagents and sample processing effectiveness.
2. The heat treatment step is monitored with an external thermometer and interval timer. Use the max/min temperature memory of the thermometer to ensure that a temperature of 95 ± 5 C is maintained. Use the interval timer to ensure that heat-treatment duration is 10 ± 2 minutes.
3. Good laboratory practice recommends the use of control materials. Users should follow the appropriate federal, state and local guidelines concerning the running of external quality controls.
4. ***illumi****gene* Group A *Streptococcus* External Control Reagents are supplied separately (Catalog 279910). It is recommended that the reactivity of each new lot and each new shipment of ***illumi****gene* Group A Strep be verified on receipt and before use. External control tests should be performed thereafter in accordance with appropriate federal, state and local guidelines. The ***illumi****gene* Group A Strep test kit should not be used in patient testing if the external controls do not produce the correct results.
5. A separate device must be used for each external control reagent.

EXPECTED VALUES
Overall incidence of *Streptococcus pyogenes* in patients tested during the 2012 clinical study was 14.6% (116/796).

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The ***illumi****gene* Group A Strep assay does not distinguish between viable and non-viable organisms.
2. Respiratory infections can be caused by Streptococci of serogroups other than A as well as other pathogens. This device does not differentiate between carriers and infected individuals.
3. The use of antibiotics or over-the-counter medications may suppress the *Streptococcus* growth in culture despite the presence of organisms detectable by nucleic acid tests.
4. As will all diagnostic tests, results should be interpreted together with other information available to the physician.
5. Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X, as found in Zicam® Homeopathic Cold Remedies, interfere with the ***illumi****gene* Group A Strep Assay.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS
The ***illumi****gene* Group A *Streptococcus* DNA Amplification Assay was evaluated in 2012 by independent clinical test sites representing geographically distinct regions throughout the United States. Compiled clinical study information is described below.

Table 1. *illumi*gene Group A Strep Performance Data Summary

Group A *Streptococcus* Composite Culture	***illumi*gene Group A Strep**		
	Positive	**Negative**	**Total**
Positive	100	2	102
Negative	16	680*	696
Total	116	682	798
			95% CI
Sensitivity	100/102	**98.0%**	93.1 – 99.5%
Specificity	680/696	**97.7%**	96.3 – 98.6%
Invalid Rate	2/800	**0.3%**	0.1 – 0.9%

***** Two specimens produced initial invalid results that were negative upon re-test. A total of 798 qualified specimens were evaluated with the test device and composite bacterial culture methods.

Composite Culture Method testing included the Clinical Site Culture Method and a Reference Culture Method performed by Meridian Bioscience. Site culture testing was performed by direct plating of the throat swab specimen while reference culture testing was performed by plating the swab transport media. Specimens producing positive Group A *Streptococcus* results from either the Site Culture Method or the Reference Culture Method were considered positive.

Table 2 and Table 3 summarize performance information by Clinical Site. Site data was analyzed based on Composite Culture Methods and the Site Culture Method. Seven of the 102 Composite Culture-positive specimens were positive by Site Culture methods only; 26 of the 102 Composite Culture-positive specimens were positive only by the Reference Culture method; the two ***illumi****gene* false-negative results were positive only by the Reference Culture performed by Meridian Bioscience. Statistical analysis of Site performance data was performed with no significant difference among Sites identified.

Table 2: *illumi*gene Group A Strep Assay Performance by Site; Composite Culture Method

	Positive Specimens			**Negative Specimens**		
	***illumi*gene /Composite Culture**	**% Sensitivity**	**95% CI**	***illumi*gene /Composite Culture**	**% Specificity**	**95% CI**
Total	**100/102**	**98.0%**	**93.1 - 99.5%**	**680/696**	**97.7%**	**96.3 - 98.6%**
Site 1	47/47	100.0%	92.4 - 100.0%	287/291	98.6%	96.5 - 99.5%
Site 2	28/30	93.3%	78.7 - 98.2%	204/212	96.2%	92.7 - 98.1%
Site 3	25/25	100.0%	86.7 - 100.0%	189/193	97.9%	94.8 - 99.2%

Table 3: *illumigene* Group A Strep Assay Performance by Site; Site Culture Method

	Positive Specimens			Negative Specimens		
	***illumigene* /Site Culture**	**% Sensitivity**	**95% CI**	***illumigene* /Site Culture**	**% Specificity**	**95% CI**
Total	**74/74**	**100.0%**	**95.1 - 100.0%**	**682/724**	**94.2%**	**92.3 - 95.7%**
Site 1	40/40	100.0%	91.2 - 100.0%	287/298	96.3%	93.5 - 97.9%
Site 2	18/18	100.0%	82.4 - 100.0%	206/224	92.0%	87.7 - 94.9%
Site 3	16/16	100.0%	80.6 - 100.0%	189/202	93.6%	89.3 - 96.2%

Seventy two (9.0%) patients tested were two years of age or younger; 385 (48.2%) patients were between two and 12 years of age; while 259 (32.5%) patients were greater than 12 and less than 21 years of age. The remaining 82 (10.3%) study patients were greater than 21 years old. Age information was known for all patients included in the performance analysis. No performance differences were noted based on chronological age.

The study population included 410 (51.4%) female patients and 386 (48.4%) male patients. Gender was unknown for two (0.2%) of the study participants. No performance differences were noted based on gender.

ANALYTICAL SENSITIVITY
The analytical sensitivity or Limit of Detect for the ***illumigene*** Group A Strep assay was determined for common *S. pyogenes* strains.

Limit of Detect was determined using a minimum of 20 replicates for each measurand and a stated probability (eg. 95% where 19/20 replicates are positive) of obtaining positive responses. Analytical sensitivity testing is summarized below:

***Streptococcus pyogenes* Strain Description**	**CFU/Test**
ATCC 12344	400
ATCC 19615	430

ASSAY REACTIVITY
The following *S. pyogenes* strains were tested and produced positive reactions at or below stated assay limit of detect of 400 CFU/Test with ***illumigene*** Group A Strep: ATCC12384, NCIMB 13285, CCUG 33061, CCUG 33409, CCUG 39158, ATCC 49399, CCUG 53553.

REPRODUCIBILITY
Blind-coded panels of 10 samples were supplied to three independent laboratories for reproducibility studies. Samples were randomly sorted within each panel to mask sample identities. The panels included contrived samples manufactured as low positive samples (ie. near the assay limit of detection, n=3) and high negative samples, (n=3). The panels also included contrived positive (n=3) samples and natural negative samples (n=1). Testing was performed by different operators at each site on the same day (intra-assay variability) for five days (inter-assay variability). Three lots of ***illumigene*** Group A Strep and five ***illumipro-10*** instruments were used in this study. Positive and Negative Controls were tested each day of testing. The results are given in the table below:

	Clinical Site 1		Clinical Site 2		Clinical Site 3		Total	
Sample Type	**Percent agreement**		**Percent agreement**		**Percent agreement**		**Percent agreement**	
Negative	10/10	100%	10/10	100%	10/10	100%	30/30	100%
High Negative	29/30	96.7%	30/30	100%	28/30	93.3%	87/90	96.7%
Low Positive	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%
Positive	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%
Negative Control	10/10	100%	10/10	100%	10/10	100%	30/30	100%
Positive Control	10/10	100%	10/10	100%	10/10	100%	30/30	100%

CROSSREACTIVITY
Crossreactivity studies were performed with positive and negative specimens inoculated with bacterial or fungal organisms to a final concentration of 1.2 x 10^8 CFU/mL. Human DNA was tested at 0.02 mg/mL with no cross-reactivity observed. None of the following organisms reacted with ***illumigene*** Group A Strep:
Acinetobacter baumannii, Acinetobacter lwoffii, Aeromonas hydrophila, Arcanobacterium haemolyticum, Bordetella bronchiseptica, Bordetella holmesii, Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Burkholderia cepacia, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Corynebacterium diphtheria, Corynebacterium pseudodiphtheriticum, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Legionella jordanis, Legionella micdadei, Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes, Moraxella catarrhalis, Morganella morganii, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus anginosus, Streptococcus bovis, Streptococcus canis, Streptococcus dysgalactiae (subspecies equisimilis), Streptococcus equinus, Streptococcus intermedius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus salivarius, Streptococcus suis, Streptococcus uberis, Streptococcus sp. Viridans type.

Two organisms produced unexpected results during initial testing that were not confirmed through further testing. *Arcanobacterium haemolyticum* produced false-negative results for one of 13 replicates tested. *Haemophilus influenzae* produced false-positive results for one of 13 replicates tested

Mycoplasma pneumoniae was tested at 1.5 x 10^6 CFU/mL with no reaction with the ***illumigene*** Group A Strep assay.

TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES
Interfering substance testing was performed by adding potentially interfering substances diluted in sterile saline or contrived positive samples (ATCC 12344, ATCC 19615) to the ***illumigene* SMP PREP**. Rayon swabs inoculated with negative throat flora and Liquid Amies Transport Media were added to the ***illumigene* SMP PREP** containing potentially interfering substances and tested.

The following biological substances, at the saturated solvent/diluent concentrations indicated, do not interfere with test results: Mucus (5.0mg/mL), Human saliva (10% v/v), and Whole Blood (2.5% v/v). Whole Blood at concentrations greater than 2.5% v/v may interfere with the ***illumigene*** Group A Strep assay

The following chemical substances, at the saturated solvent/diluents concentrations indicated, do not interfere with test results:
Acetaminophen (19.5 mg/mL), Aspirin (12.3 mg/mL), Cepacol® Mouthwash, [Cetyopridinium Chloride (0.005% v/v)], Cepacol® Sore Throat Lozenges [Benzocaine (0.09 mg/mL), Menthol (0.02 mg/mL)], Chloraseptic® Oral Anesthetic/Analgesic [Phenol (0.07% v/v)], Contac® Cold + Flu Tablets [Acetaminophen (16.2 mg/mL), Chlorpheniramine maleate (0.06 mg/mL), Phenylephrine HCl (0.16 mg/mL)], Crest® Complete Toothpaste [Sodium fluoride (0.1 mg/mL)], Diphenhydramine HCl (2.7 mg/mL), HALLS® Cough Drops [Menthol (0.08 mg/mL)], Ibuprofen (15.6 mg/mL), Listerine® Antiseptic Mouthwash [Eucalyptol (0.0092% v/v), Menthol (0.0042% v/v), Methyl salicylate (0.0060% v/v), Thymol (0.0064% v/v)], Robitussin® Cough/Chest Congestion Cough Syrup [Dextromethorphan HBr (0.2 mg/mL), Guaifenesin (2.0 mg/mL)].

Zicam® Oral Mist [Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X (0.625% v/v)] produced invalid results in all replicates tested.

ITALIANO

illumigene®

Streptococcus Gruppo A (Strep Gruppo A)

Test di amplificazione di DNA per il rilevamento dello *Streptococcus pyogenes* in campioni di tamponi faringei

REF **280150** IVD **Dispositivo medico per diagnostica in vitro**

FINALITÀ D'USO
Il test ***illumigene*** *Streptococcus* Gruppo A (Strep Gruppo A), eseguita sull'***illumipro-10***™, è un'analisi in vitro qualitativa per il rilevamento dello *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* β-emolitico di Gruppo A) in campioni di tamponi faringei.

Il test ***illumigene*** Strep Gruppo A utilizza la tecnica LAMP (loop-mediated isothermal amplification, amplificazione isotermica loop-mediata)[1, 2], una tecnologia in grado di rilevare lo *Streptococcus pyogenes* identificando un segmento del genoma dello *Streptococcus pyogenes.* I risultati dell'analisi ***illumigene*** Strep Gruppo A possono essere utilizzati come ausilio nella diagnosi della faringite da Streptococcus di Gruppo A. L'analisi non è indicata per monitorare il trattamento delle infezioni da *Streptococcus* di Gruppo A.

Il test ***illumigene*** Strep Gruppo A è inteso per l'utilizzo in ospedale, laboratori statali o centri di riferimento. Il dispositivo non è inteso per l'uso come "point-of-care".

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST
Il test molecolare ***illumigene*** *Streptococcus* Gruppo A si basa sulla tecnica di amplificazione loop-mediata (LAMP). Il test ha come target una sequenza di 206 paia di basi (bp) altamente conservata del genoma dello *Streptococcus pyogenes* che si trova nella regione del gene codificante l'esotossina pirogenica B (speB).

L'amplificazione loop-mediata utilizza primers specificamente disegnati allo scopo di fornire un'amplificazione isotermica continua e specifica del DNA. Un sottoprodotto dell'amplificazione è il magnesio pirofosfato, che forma un precipitato bianco rendendo torbida la soluzione di reazione. Le caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione vengono rilevate dall'incubatore/lettore ***illumipro-10*** Meridian. Variazioni nelle caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione creata dalla precipitazione del magnesio pirofosfato indicano la presenza del DNA target. L'assenza del DNA target determina una variazione non significativa nell'assorbanza del campione.

Il kit ***illumigene*** Strep Gruppo A include i dispositivi per la preparazione dei campioni ***illumigene*** e i dispositivi di analisi dello *Streptococcus* di Gruppo A ***illumigene***. Il dispositivo di preparazione del campione II ***illumigene***, utilizzato per la diluizione e la preparazione dei campioni, è riempito con una soluzione tamponata contenente DNA di *Staphylococcus aureus*, trattato con formalina, in *E. coli*. Il dispositivo di analisi ***illumigene*** Strep Gruppo A contiene un granulo liofilizzato in ognuna delle due provette: una provetta TEST con primer specifici dello *Streptococcus* di Gruppo A e una provetta CONTROLLO con primer specifici dello *S. aureus*. Il DNA di *S. aureus* nel dispositivo di preparazione del campione e i primer specifici per *S. aureus* presenti nella provetta CONTROLLO fungono da controllo interno per l'analisi. Durante la preparazione del campione, ciascun campione del paziente viene aggiunto al dispositivo di preparazione del campione II e combinato con DNA di *S. aureus* prima dell'amplificazione. L'aggiunta di DNA di *S. aureus* al campione del paziente consente l'elaborazione parallela del DNA target e del DNA di controllo mediante amplificazione e rilevamento.

Il controllo interno monitora l'inibizione dell'amplificazione, la performance del reagente analitico e l'efficacia di elaborazione del campione. Il target di controllo di *S. aureus* deve essere amplificato e rilevato nella reazione finale, altrimenti il test è considerato non valido e i risultati del paziente non vengono riferiti.

L'***illumipro-10*** monitora le variazioni delle caratteristiche di assorbanza misurando la trasmissione della luce attraverso le soluzioni di reazione di Test e di Controllo. La trasmissione della luce viene controllata all'inizio dell'esecuzione del ciclo di analisi ($Segnale_{iniziale}$, S_i) e alla fine dello stesso ($Segnale_{finale}$, S_f). L'***illumipro-10*** calcola la variazione nella trasmissione della luce fra la fine e l'inizio dell'esecuzione del ciclo di analisi (S_f:S_i) e confronta il rapporto con un valore stabilito di cut-off.

I valori stabiliti di cut-off della provetta TEST sono utilizzati per refertare i risultati del campione. I rapporti S_f:S_i della provetta TEST inferiori all'82% sono refertati come 'POSITIVI'; i rapporti S_f:S_i della provetta TEST superiori o pari all'82% sono refertati come 'NEGATIVI'. *I valori numerici non sono riportati.*

I valori stabiliti di cut-off della provetta CONTROLLO sono utilizzati per determinare la validità. I rapporti S_f:S_i della provetta CONTROLLO inferiori al 90% sono considerati validi e consentono la refertazione dei risultati della provetta TEST (POSITIVI, NEGATIVI). I rapporti S_f:S_i della provetta CONTROLLO superiori o pari al 90% sono considerati non validi e impediscono la refertazione dei risultati della provetta TEST. Le reazioni della provetta CONTROLLO non valide sono refertate come 'NON VALIDE'. *I valori numerici non sono riportati.*

Per la reazione della provetta CONTROLLO valgono criteri di cut-off più rigorosi per garantire che l'amplificazione non sia inibita, i reagenti reagiscano come atteso e il trattamento del campione sia avvenuto correttamente.

PRINCIPI BIOLOGICI
Lo *Streptococcus* di Gruppo A, o *Streptococcus pyogenes*, è un batterio che si trova comunemente nella gola o nella cute umana. L'*S. pyogenes* causa negli esseri umani un'ampia varietà di malattie, la più comune delle quali è la faringite acuta o mal di gola. La faringite viene diagnosticata ogni anno negli Stati Uniti in circa 11 milioni di pazienti, dei quali lo *Streptococcus* di Gruppo A è responsabile del 15% - 30% di casi nei bambini e del 5% - 20% di casi negli adulti.[3] La faringite streptococcica è spesso accompagnata da mal di gola, febbre, essudati tonsillari e ingrossamento dei linfonodi cervicali.

Le infezioni da Streptococcus di Gruppo A possono causare un lieve malessere (ad es. faringite, impetigine) o possono provocare disturbi invasivi e potenzialmente letali (ad es. cellulite, batteriemia, fascite necrotizzante, sindrome da shock tossico da streptococco). Circa il 25% di pazienti con fascite necrotizzante muore a causa dell'infezione; oltre il 35% di pazienti con sindrome da shock tossico da streptococco muore a causa dell'infezione.[4] Lo *Streptococcus pyogenes* può essere presente anche in pazienti sani asintomatici. Studi con colture da tamponi faringei prelevate da bambini sani durante le epidemie scolastiche hanno evidenziato una prevalenza di portatori fino al 20%.[3]

I segni e i sintomi della faringite da *Streptococcus* di Gruppo A spesso si sovrappongono ad altre infezioni, rendendo la diagnosi di laboratorio uno strumento importante nell'identificazione e nel trattamento dell'infezione. I campioni per i test di laboratorio devono essere ottenuti tramite uno sfregamento energico con un tampone sia delle tonsille sia della parte posteriore della gola.[5] La diagnosi tradizionale di laboratorio viene eseguita mediante test antigenici rapidi o coltura su agar di sangue di montone seguiti da differenziazione con agglutinazione al lattice.[5] La specificità dei test antigenici rapidi è variabile e si raccomanda la conferma di risultati negativi con coltura di tampone faringeo.[5] Le colture di tampone faringeo possono presentare una sensibilità del 90 - 95% quando si utilizzano tecniche corrette di prelievo e piastratura.[3]

I test diagnostici quali le sonde di DNA chemiluminescente possono presentare una sensibilità pari a quella delle normali colture faringee su agar di sangue di montone.[5]

REAGENTI/MATERIALI FORNITI
Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.
1. Il dispositivo di preparazione del campione II /Controllo negativo III (**SMP PREP**) ***illumigene*****:** soluzione con tampone Tris contenente DNA di *S. aureus*, trattato con formalina, in *E. coli* e sodio azide (0,09%) come conservante.
2. Dispositivo di analisi ***illumigene*** Strep Gruppo A**:** dispositivo a due provette contenente reagenti di amplificazione liofilizzati (DNA polimerasi, deossinucleotidi trifosfati) e primer specifici dello *Streptococcus* di Gruppo A (provetta TEST) o primer specifici di *Staphylococcus aureus* (provetta CONTROLLO)**.**
3. **Provette per trattamento termico *illumigene***

MATERIALI FORNITI SEPARATAMENTE
Kit di controllo esterno *Streptococcus* di Gruppo A (Strep Gruppo A) ***illumigene***, Numero di catalogo: 279910

MATERIALI NON FORNITI
1. Guanti in lattice monouso, senza talco
2. Puntali per pipette privi di DNAse/RNAse e resistenti alla contaminazione da aerosol
3. Sistema di prelievo e trasporto dei campioni
4. Tamponi, con impugnatura in plastica frangibile: rayon, poliestere o nylon flocculato
5. Mezzo di trasporto non nutritivo: liquido di Amies, senza carbone; Stuart liquido

STRUMENTI NON FORNITI
1. Blocco termostatico a secco con pozzetti da12 mm in grado di raggiungere i 95 C
2. Termometro digitale con registrazione della temperatura max/min (es. termometro impermeabile/a prova d'urto Traceable® Lollipop™)
3. Vortex
4. Timer
5. Micropipetta in grado di dispensare 50 µL
6. ***illumipro-10,*** Meridian Bioscience, Inc. Numero di catalogo: 610172

PRECAUZIONI
1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Non scambiare i dispositivi di preparazione del campione o i dispositivi di analisi tra i lotti. Le provette per il trattamento termico sono intercambiabili, a patto che non siano ancora scaduti quando vengono utilizzati.
3. Seguire le buone pratiche di laboratorio e il livello di biosicurezza 2 durante l'analisi.[6] Trattare tutti i campioni e i dispositivi di analisi usati come in grado di trasmettere agenti infettivi. Non mangiare, bere o fumare nelle aree in cui vengono gestiti i campioni o i reagenti del kit.
4. Indossare guanti monouso per la gestione dei campioni e lavarsi a fondo le mani alla fine.
5. Applicare i programmi di controllo qualità per laboratori di analisi molecolari, che comprendano un impiego e una manutenzione adeguati delle apparecchiature.[7]
6. Il dispositivo di analisi ***illumigene*** Strep Gruppo A contiene reagenti liofilizzati. La busta protettiva non deve essere aperta fino a quando non si è pronti a eseguire l'analisi.
7. Il dispositivo di analisi ***illumigene*** Strep Gruppo A comprende un sistema di chiusura progettato per evitare la contaminazione dell'area di analisi con il prodotto di amplificazione. NON utilizzare dispositivi di analisi con sistemi di chiusura danneggiati.
8. Smaltire i dispositivi di analisi ***illumigene*** subito dopo l'uso, lasciando chiusa la linguetta del dispositivo. NON aprire il dispositivo di analisi dopo l'uso. L'apertura del dispositivo dopo l'amplificazione potrebbe comportare la contaminazione dell'area di analisi con il prodotto di amplificazione.

FRASI DI RISCHIO E CONSIGLI DI PRUDENZA
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

STABILITÁ E CONSERVAZIONE
La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit. Conservare il kit a 2-27 C.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI
Assicurarsi che i reagenti del kit raggiungano temperatura ambiente (21-27 C) prima dell'uso. Si potrebbero ottenere risultati incorretti se i reagenti non vengono portati a temperatura ambiente prima dell'uso.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI
Tipo campione: tamponi faringei

Raccolta campione: il prelievo dei campioni faringei deve essere eseguito in conformità con le linee guida della struttura sanitaria in relazione al prelievo di campioni clinici per coltura di *Streptococcus* di Gruppo A. I campioni devono essere raccolti passando energicamente con il tampone le tonsille e la parte posteriore della gola.

Collocare il(i) tampone(i) in un mezzo di trasporto non nutritivo (es., Stuart o Amies liquido senza carbone) e trasportarlo(i) al laboratorio. I campioni devono essere tenuti a una temperatura compresa tra 2 e 27 C durante il trasporto.

I campioni possono essere conservati a 21-27 C per un massimo di 48 ore prima dell'analisi. Se l'analisi non viene iniziata entro tale limite di tempo, il campione può essere conservato a 2-8 C per un massimo di sette giorni.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI
NOTA: assicurarsi che l'***illumipro-10*** sia acceso e che siano state completate le necessarie verifiche del funzionamento prima di dare inizio alla PREPARAZIONE DEI CAMPIONI. Consultare il Manuale d'uso dell'***illumipro-10*** per ulteriori informazioni sulla configurazione e sul funzionamento dello strumento.
1. Aggiungere il tampone faringeo all'**SMP PREP *illumigene***. Rompere l'impugnatura del tampone. Rimettere e fissare il tappo dell'**SMP PREP**. Agitare su vortex l'**SMP PREP** per un minimo di 10 secondi. I campioni nell'**SMP PREP *illumigene*** possono essere conservati a 2-29 C per massimo 2 ore prima del trattamento termico.
2. Rimuovere il tappo dalla punta dell'**SMP PREP** e dispensare cinque-dieci gocce di campione in una provetta ***illumigene*** per il trattamento termico pulita.
3. Ripetere le fasi di preparazione del campione per tutti i campioni da analizzare.
4. Riscaldare ciascuna miscela campione/controllo in un blocco termostatico a 95 ± 5 C per 10 ± 2 minuti. Monitorare la fase del trattamento termico con il termometro digitale e il timer.

5. Rimuovere ciascuna provetta per il trattamento termico dal blocco termostatico. I campioni trattati termicamente possono essere conservati a 21-29 C fino ad un'ora prima dell'analisi.

PROCEDURA DEL TEST

NOTA: È possibile analizzare un massimo di 10 campioni in un singolo ciclo ***illumi**pro-10*.

1. Agitare con Vortex i campioni trattati termicamente per circa 10 secondi.
2. Rimuovere un dispositivo di analisi ***illumi**gene* Strep Gruppo A dalla busta protettiva. Aprire con attenzione il dispositivo, tenendo le provette in maniera tale che il reagente liofilizzato non fuoriesca all'apertura. Porre il dispositivo su una superficie piatta o in un portaprovette in grado di contenere il dispositivo.
3. Trasferire 50 µL di campione trattato termicamente nella provetta TEST (sfera liofilizzata bianca) del dispositivo di analisi ***illumi**gene*. Prestare attenzione a non introdurre aria nella miscela di reazione. Utilizzando un nuovo puntale per pipette, trasferire 50 µL di campione trattato termicamente alla provetta CONTROLLO (sfera liofilizzata gialla) del dispositivo di analisi ***illumi**gene*. Prestare attenzione a non introdurre aria nella miscela di reazione. Chiudere il dispositivo di analisi ***illumi**gene* bloccando adeguatamente la linguetta di chiusura.
4. Miscelare il dispositivo picchiettandolo sul bancone o agitandolo leggermente per rimuovere le bolle d'aria. Esaminare attentamente il dispositivo di analisi per verificare la dissoluzione della sfera liofilizzata di controllo/test e per escludere la presenza di bolle d'aria residue nella provetta e di liquido nella parte superiore del dispositivo. Se si nota la presenza di sferette non dissolte, bolle d'aria o liquido, miscelare con delicatezza il dispositivo picchiettandolo sul bancone e ripetere l'ispezione visiva.
5. Inserire il dispositivo di analisi ***illumi**gene* nell'***illumi**pro-10* e iniziare la reazione di amplificazione e di rilevamento. I risultati saranno visualizzati alla conclusione del ciclo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

ID campione	Risultato riportato	Interpretazione
Campione del paziente	POSITIVO	Il campione contiene il DNA target di *Streptococcus pyogenes*.
	NEGATIVO	Nessun DNA di *Streptococcus pyogenes* rilevato.
	NON VALIDO	**Nessun risultato refertabile. Ripetere il test utilizzando il campione originale.** Campione del paziente con effetto inibitorio, preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo positivo	POSITIVO	Risultato del controllo positivo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, corretto funzionamento dell'***illumi**pro-10*.
	NEGATIVO	**Risultato del controllo non corretto.** Ripetere i test di controllo come prima azione per identificare la causa del fallimento. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale.
	NON VALIDO	**Nessun risultato refertabile. Ripetere l'intero ciclo di analisi usando i campioni originali.** Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo negativo	POSITIVO	**Risultato del controllo non corretto.** Ripetere i test di controllo come prima azione per identificare la causa del fallimento. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale.
	NEGATIVO	Risultato del controllo negativo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, corretto funzionamento dell'***illumi**pro-10*.
	NON VALIDO	**Nessun risultato refertabile. Ripetere l'intero ciclo di analisi usando i campioni originali.** Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
POZZETTO VUOTO	NESSUNO	Nessun dispositivo di analisi ***illumi**gene* nel pozzetto dell'***illumi**pro-10*. **OPPURE** Il presente dispositivo di analisi ***illumi**gene* è compromesso a causa di un errore nella preparazione del campione, dispositivo sporco o posizionamento non corretto del dispositivo. **Ripetere il test utilizzando il campione originale.**

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

1. Ogni dispositivo contiene una provetta per il controllo interno che verifica l'eventuale inibizione dell'amplificazione e l'efficacia dei reagenti e dell'analisi del campione.
2. La fase del trattamento termico è monitorata con un termometro esterno e con un timer. Utilizzare la registrazione della temperatura max/min del termometro per garantire il mantenimento di una temperatura di 95 ± 5 C. Usare il timer per garantire che la durata del trattamento termico sia di 10 ± 2 minuti.
3. Una buona pratica di laboratorio raccomanda l'uso dei reagenti di controllo. Gli utilizzatori devono attenersi alle vigenti linee guida nazionali, statali e locali riguardanti l'analisi dei controlli di qualità esterni.
4. I reagenti di controllo esterni ***illumi**gene* Strep Gruppo A sono forniti separatamente (Catalogo 279910). Si raccomanda di verificare la reattività di ciascun nuovo lotto e di ogni nuova spedizione di ***illumi**gene* Strep Gruppo A al momento della ricezione e prima dell'uso. Le analisi dei controlli esterni vanno eseguiti quindi in conformità con le vigenti linee guida nazionali, statali e locali. Il test del kit ***illumi**gene* Strep Gruppo A non va utilizzato per l'analisi dei pazienti se i controlli esterni non producono i risultati corretti.
5. Occorre utilizzare un dispositivo per ciascun reagente di controllo esterno.

VALORI ATTESI

L'incidenza complessiva di *Streptococcus pyogenes* nei pazienti analizzati durante lo studio clinico del 2012 è stata del 14,6% (116 su 796).

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Il test ***illumi**gene* Strep Gruppo A non distingue tra organismi vitali e non vitali.
2. Le infezioni respiratorie possono essere causate da streptococchi di sierogruppi diversi da A e da altri patogeni. Questo dispositivo non distingue tra portatori e individui infetti.
3. L'uso di antibiotici o farmaci da banco potrebbe sopprimere la crescita dello *streptococco* nella coltura nonostante la presenza di organismi rilevabili tramite le analisi degli acidi nucleici.
4. Analogamente a tutti i test diagnostici, i risultati devono essere interpretati insieme ad altre informazioni a disposizione del medico.
5. Sostanze quali Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X, presenti in rimedi omeopatici per il raffreddore quali Zicam®, interferiscono con il test ***illumi**gene* Strep Gruppo A.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

***illumi**gene Streptococcus* di Gruppo A è stato valutato nel 2012 da laboratori di analisi cliniche indipendenti che rappresentano regioni geograficamente distinte in tutti gli Stati Uniti. Nella tabella sottostante è riportato un riepilogo delle informazioni sugli studi clinici.

Tabella 1 - Riepilogo dei risultati delle prestazioni di *illumigene* Strep Gruppo A**

Coltura di *Streptococcus* di Gruppo A mista	***illumi**gene* Strep Gruppo A**		
	Positivo	**Negativo**	**Totale**
Positivo	100	2	102
Negativo	16	680*	696
Totale	116	682	798
			95% CI
Sensibilità	100/102	**98,0%**	93,1 – 99,5%
Specificità	680/696	**97,7%**	96,3 – 98,6%
I valori numerici non sono refertati	2/800	**0,3%**	0,1 – 0,9%

***** Due campioni avevano prodotto risultati inizialmente non validi che sono risultati negativi con un test successivo. Sono stati valutati complessivamente 798 campioni qualificati con il dispositivo di analisi e metodi di coltura batterica misti.

I test del metodo di coltura mista includevano il metodo di coltura del laboratorio clinico e un metodo di coltura di riferimento eseguito da Meridian Bioscience. I test della coltura del laboratorio sono stati eseguiti tramite piastratura diretta del campione prelevato mediante tampone faringeo mentre i test della coltura di riferimento sono stati eseguiti mediante piastratura dei mezzi di trasporto del tampone. I campioni che hanno prodotto risultati positivi per lo *Streptococcus* di Gruppo A con il metodo di coltura del laboratorio o con il metodo di coltura di riferimento sono stati considerati positivi.

La Tabella 2 e la Tabella 3 riassumono le informazioni sulle prestazioni in base al laboratorio clinico. I dati dei laboratori sono stati analizzati in base ai metodi di coltura mista e al metodo di coltura del laboratorio. Sette dei 102 campioni di coltura mista positivi sono risultati positivi solo con i metodi di coltura del laboratorio; 26 dei 102 campioni di coltura mista positivi sono risultati positivi solo con il metodo di coltura di riferimento; i due risultati ***illumi**gene* falsi-negativi sono risultati positivi solo mediante la coltura di riferimento eseguita da Meridian Bioscience. L'analisi statistica dei dati prestazionali del laboratorio è stata eseguita senza nessuna differenza significativa tra i laboratori clinici identificati.

Tabella 2 - Prestazioni del test *illumigene* Strep Gruppo A per sito clinico; metodo di coltura mista**

	Campioni positivi			**Campioni negativi**		
	***illumi**gene* /Coltura mista**	**% Sensibilità**	**95% CI**	***illumi**gene* /Coltura mista**	**% Specificità**	**95% CI**
Totale	**100/102**	**98,0%**	**93,1 - 99,5%**	**680/696**	**97,7%**	**96,3 - 98,6%**
Laboratorio 1	47/47	100,0%	92,4 - 100,0%	287/291	98,6%	96,5 - 99,5%
Laboratorio 2	28/30	93,3%	78,7 - 98,2%	204/212	96,2%	92,7 - 98,1%
Laboratorio 3	25/25	100,0%	86,7 - 100,0%	189/193	97,9%	94,8 - 99,2%

Tabella 3 - Prestazioni del test *illumigene* Strep Gruppo A per sito clinico; metodo di coltura del laboratorio

	Campioni positivi			Campioni negativi		
	***illumi*gene /Coltura del laboratorio**	**% Sensibilità**	**95% CI**	***illumi*gene /Coltura del laboratorio**	**% Specificità**	**95% CI**
Totale	**74/74**	**100,0%**	**95,1 - 100%**	**682/724**	**94.2%**	**92,3 - 95,7%**
Laboratorio 1	40/40	100,0%	91,2 - 100%	287/298	96,3%	93,5 - 97,9%
Laboratorio 2	18/18	100,0%	82,4 - 100%	206/224	92,0%	87,7 - 94,9%
Laboratorio 3	16/16	100,0%	80,6 - 100%	189/202	93,6%	89,3 - 96,2%

Settantadue (9,0%) pazienti analizzati non superavano i due anni di età; 385 (48,2%) pazienti erano di età compresa tra due e 12 anni; mentre 259 (32,5%) pazienti rientravano in una fascia di età compresa tra 12 e 21 anni. I restanti 82 (10,3%) pazienti partecipanti allo studio erano di età superiore a 21 anni. Le informazioni sull'età erano note per tutti i pazienti inclusi nell'analisi delle prestazioni. Non sono state notate differenze nelle prestazioni in base all'età cronologica.

La popolazione dello studio includeva 410 (51,4%) pazienti di sesso femminile e 386 (48,4%) pazienti di sesso maschile. Per due (0,2%) partecipanti allo studio non era noto il sesso. Non sono state notate differenze nelle prestazioni in base al sesso.

SENSIBILITÀ ANALITICA
La sensibilità analitica o limite di rilevazione per il test ***illumi*gene** Strep Gruppo A è stata determinata per tutti i ceppi comuni di *S. pyogenes*.

Il limite di rilevazione è stato determinato usando un minimo di 20 repliche per ciascuna quantità da misurare e una probabilità fissa (es. 95% dove 19/20 repliche sono positive) di ottenere risposte positive. L'analisi della sensibilità analitica è sintetizzata in tabella:

Descrizione del ceppo di ***Streptococcus pyogenes***	**CFU/Test**
ATCC 12344	400
ATCC 19615	430

CROSS-REATTIVITÀ REATTIVITA' DEL TEST
I seguenti ceppi di *S. pyogenes* sono stati analizzati e hanno prodotto reazioni positive pari o inferiori al limite di *rilevazione* di 400 CFU/Test con ***illumi*gene** Strep Gruppo A: ATCC12384, NCIMB 13285, CCUG 33061, CCUG 33409, CCUG 39158, ATCC 49399, CCUG 53553.

RIPRODUCIBILITÀ
Per gli studi di riproducibilità sono stati forniti a tre laboratori indipendenti pannelli di 10 campioni codificati in cieco. I campioni sono stati ordinati casualmente all'interno di ciascun pannello per mascherare le identità dei campioni. I pannelli includevano campioni artificiali prodotti come campioni bassi positivi (ossia vicini al limite di rilevazione dell'analisi, n=3) e campioni alti negativi (n=3). I pannelli comprendevano anche campioni artificiali positivi (n=3) e campioni naturali negativi (n=1). L'analisi è stata condotta da diversi operatori in ciascun laboratorio lo stesso giorno (variabilità intra-saggio) per cinque giorni (variabilità inter-saggio). In questo studio sono stati utilizzati tre lotti di ***illumi*gene** Strep Gruppo A e cinque strumenti ***illumi*pro-10**. I controlli positivi e negativi sono stati testati ogni giorno di analisi. I risultati sono mostrati nella tabella sotto:

	Laboratorio clinico 1		**Laboratorio clinico 2**		**Laboratorio clinico 3**		**Totale**	
Tipo di campione	**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**	
Negativo	10/10	100%	10/10	100%	10/10	100%	30/30	100%
Alto Negativo	29/30	96,7%	30/30	100%	28/30	93,3%	87/90	96,7%
Basso Positivo	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%
Positivo	30/30	100%	30/30	100%	30/30	100%	90/90	100%
Controllo negativo	10/10	100%	10/10	100%	10/10	100%	30/30	100%
Controllo positivo	10/10	100%	10/10	100%	10/10	100%	30/30	100%

CROSS-REATTIVITÀ
Studi di reattività crociata sono stati eseguiti con campioni positivi e negativi inoculati con organismi batterici o fungini ad una concentrazione finale di 1,2 x 10^8 CFU/mL. È stato analizzato DNA umano a 0,02 mg/mL e non è stata osservata reattività crociata. Nessuno dei seguenti organismi ha reagito con ***illumi*gene** Strep Gruppo A:

Acinetobacter baumannii, Acinetobacter lwoffii, Aeromonas hydrophila, Arcanobacterium haemolyticum, Bordetella bronchiseptica, Bordetella holmesii, Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Burkholderia cepacia, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Corynebacterium diphtheria, Corynebacterium pseudodiphtheriticum, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Legionella jordanis, Legionella micdadei, Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes, Moraxella catarrhalis, Morganella morganii, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus anginosus, Streptococcus bovis, Streptococcus canis, Streptococcus dysgalactiae (sottospecie equisimilis), Streptococcus equinus, Streptococcus intermedius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus salivarius, Streptococcus suis, Streptococcus uberis, Streptococcus sp. Viridans. sp. Viridans.

Due organismi hanno prodotto, durante i test iniziali, risultati inattesi non confermati nei test successivi. *L'Arcanobacterium haemolyticum* ha prodotto risultati falsi negativi per una delle 13 repliche analizzate. *L'Haemophilus influenzae* ha prodotto risultati falsi positivi per una delle 13 repliche analizzate.

Il *Mycoplasma pneumoniae* è stato analizzato a 1,5 x 10^6 CFU/mL e non è stata osservata alcuna reazione con il test ***illumi*gene** Strep Gruppo A.

ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI
Sono stati eseguiti test delle sostanze interferenti aggiungendo sostanze potenzialmente interferenti diluite in soluzione fisiologica sterile o in campioni artificiali positivi (ATCC 12344, ATCC 19615) all'***illumi*gene SMP PREP**. Tamponi in rayon inoculati con flora faringea negativa e terreno di trasporto Amies liquido sono stati aggiunti all'***illumi*gene SMP PREP** contenenti sostanze potenzialmente interferenti e sono stati analizzati.

Le seguenti sostanze biologiche, alle specifiche concentrazioni saturate di solvente/diluente, non interferiscono con i risultati dei test: Muco (5,0 mg/mL), saliva umana (10% v/v) e sangue intero (2,5% v/v). Il sangue intero a concentrazioni superiori a 2,5% v/v interferisce con il test ***illumi*gene** Strep Gruppo A.

Le seguenti sostanze chimiche, alle specifiche concentrazioni saturate di solvente/diluente, non interferiscono con i risultati dei test:
Acetaminofene (19,5 mg/mL), Aspirina (12,3 mg/mL), Cepacol® colluttorio, [Cetilpiridinio cloruro (0,005% v/v)], Cepacol® pastiglie contro il mal di gola [Benzocaina (0,09 mg/mL), Mentolo (0,02 mg/mL)], Chloraseptic® anestetico/analgesico orale [Fenolo (0,07% v/v)], Contac® pillole contro raffreddore e mal di gola [Acetaminofene 16,2 mg/mL), Clorfeniramina maleato (0,06 mg/mL), Fenilefrina HCl (0,16 mg/mL], Crest® dentifricio [Fluoruro di sodio (0,1 mg/mL)], Difenidramina HCl (2,7 mg/mL), HALLS® gocce faringee [mentolo (0,08 mg/mL)], Ibuprofene (15,6 mg/mL), Listerine® colluttorio antisettico [Eucaliptolo (0,0092% v/v), Mentolo (0,0042% v/v), Metil salicilato (0,0060% v/v), Timolo (0,0064% v/v), Robitussin® scripppo anticongestionante/antitosse [Dextrometorfano HBr (0,2 mg/mL), Guaifenesina (2,0 mg/mL)].

Zicam® spray orale [Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X (0,625% v/v)] ha prodotto risultati non validi in tutte le repliche analizzate.

FRANÇAIS

illumigene®

Test d'amplification de l'ADN de streptocoques du groupe A (SGA)

Test d'amplification de l'ADN pour la détection de *Streptocoques pyogenes* dans des échantillons de frottis de gorge

REF **280150** IVD **Dispositif médical de diagnostic in vitro**

BUT DE LA METHODE
Le test ***illumi*gene** pour le streptocoque du groupe A (SGA) réalisé sur l'appareil ***illumi*pro-10**™ est un test diagnostique qualitatif in vitro destiné à détecter *Streptococcus pyogenes* (streptocoque β-hémolytique du groupe A) sur des prélèvements de gorge par écouvillonnage.

Le test ***illumi*gene** Group A Strep utilise la technologie d'amplification génique isotherme (LAMP)[1, 2] pour détecter le *Streptococcus pyogenes* en ciblant un segment du génome dudit *Streptococcus pyogenes*. Les résultats du test ***illumi*gene** SGA peuvent aider au diagnostic d'angine à streptocoques du groupe A. Le test n'est pas conçu pour contrôler un traitement des infections à streptocoques du groupe A.

Le test ***illumi*gene** du streptocoque *de groupe A* est uniquement prévu pour être utilisé dans les laboratoires hospitaliers, de référence, régionaux, privés ou publics. Le dispositif ne convient pas pour les unités de soins ou les lieux d'intervention.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST
Le test moléculaire ***illumigene*** pour le streptocoque du groupe A repose sur la technologie d'amplification génique isotherme (LAMP). La cible du test est une séquence fortement conservée de 206 paires de bases (pb) du génome de *Streptococcus pyogenes* localisée dans la région du gène de l'exotoxine B pyrogénique (speB).

L'amplification génique isotherme (LAMP) utilise des amorces spécialement conçues pour obtenir une amplification de l'ADN spécifique, continue et isotherme. Le pyrophosphate de magnésium est un produit secondaire de cette amplification, et forme un précipité blanc qui trouble la solution de réaction. Les caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction sont suivies par l'instrument ***illumi****pro-10* Incubateur/Lecteur de Meridian. La présence de l'ADN cible est signalée par la modification des caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction en raison de la précipitation du pyrophosphate de magnésium. En l'absence de l'ADN cible, aucune modification significative de l'absorbance de l'échantillon n'est observée.

Le kit ***illumigene*** SGA inclut des systèmes de préparation del'échantillon ***illumigene*** et des dispositifs de test ***illumigene*** pour la détection de streptocoques du groupe A. Le système de préparation de l'échantillon II ***illumigene***, utilisé pour la dilution et la préparation de l'échantillon, est rempli d'une solution tamponnée contenant des *E. coli* traités au formaldéhyde et contenant de l'ADN de *Staphylococcus aureus*. Le dispositif de test ***illumigene*** SGA contient une bille de réactif d'amplification lyophilisé dans chacune de ses deux chambres : une chambre de TEST comprenant des amorces spécifiques au streptocoque de groupe A et une chambre de CONTRÔLE comprenant des amorces spécifiques à *S. aureus*. L'ADN de *S. aureus* dans le systèmede préparation de l'échantillon et les amorces spécifiques à *S. Aureus* dans la chambre de CONTRÔLE servent de contrôle interne du test. Au cours de la préparation des spécimens, chaque échantillon de patient est ajouté au systèmede préparation de l'échantillon II et combiné à l'ADN de *S. aureus* avant amplification. L'ajout d'ADN de *S. aureus* à l'échantillon d'un patient permet de traiter en parallèle l'ADN cible et l'ADN de contrôle au moyen de l'amplification et de la détection.

Le contrôle interne permet de déceler un problème d'inhibition de l'amplification et de contrôler l'efficacité des réactifs du test ou du traitement des échantillons. L'ADN de contrôle de *S. aureus* doit être amplifié et détecté dans la réaction finale. Dans le cas contraire, le test est considéré comme étant non valide et les résultats du patient ne sont pas rendus.

L'instrument ***illumi****pro-10* suit les modifications des caractéristiques d'absorbance en mesurant la transmission de la lumière à travers les solutions de réaction de test et de contrôle. La transmission de la lumière est contrôlée au début ($Signal_{initial}$, S_i) et à la fin ($Signal_{final}$, S_f) du test. L'instrument ***illumi****pro-10* calcule la variation de la transmission de la lumière entre le début et la fin du test (S_f:S_i) et compare la valeur obtenue à une valeur seuil prédéfinie.

Des valeurs seuil prédéfinies pour la chambre de TEST sont utilisées pour présenter les résultats des échantillons. Des valeurs du rapport S_f:S_i inférieures à 82 % pour la chambre de TEST sont présentées comme « POSITIVES » ; des valeurs du rapport S_f:S_i supérieures ou égales à 82 % pour la chambre de TEST sont présentées comme « NÉGATIVES ». *Les valeurs numériques ne sont pas présentées.*

Des valeurs seuil prédéfinies pour la chambre de CONTRÔLE sont utilisées pour confirmer la validité du test. Des valeurs du rapport S_f:S_i inférieures à 90 % pour la chambre de CONTRÔLE sont considérées comme valides et conduisent au rendu du résultat pour la chambre de TEST (POSITIF, NÉGATIF). Des valeurs du rapport S_f:S_i supérieures ou égales à 90 % pour la chambre de CONTRÔLE sont considérées comme non valides et empêchent le rendu du résultat pour la chambre de TEST. Les réactions non valides de la chambre de CONTRÔLE sont présentées comme « NON VALIDES ». *Les valeurs numériques ne sont pas présentées.*

Des critères d'exclusion plus sévères sont appliqués à la réaction de la chambre de CONTRÔLE pour s'assurer que l'amplification n'est pas inhibée, que les réactifs fonctionnent comme prévu et que l'échantillon a été traité de manière appropriée.

PRINCIPE DU TEST
Le streptocoque de groupe A, ou *Streptococcus pyogenes*, est une bactérie que l'on retrouve fréquemment dans la gorge et sur la peau humaine. *S. pyogenes* provoque un grand nombre de maladies chez l'homme, la plus fréquente étant l'angine aiguë (à streptocoques). Une angine est diagnostiquée chez environ 11 millions de patients, chaque année, aux États-Unis; le streptocoque de groupe A est responsable de 15 % à 30 % des cas chez les enfants et de 5 % à 20 % des cas chez les adultes.[3] L'angine à streptocoques s'accompagne souvent d'un mal de gorge, de fièvre, d'un exsudat amygdalien et d'adénopathies lymphatiques cervicales.

Les infections à streptocoques du groupe A peuvent provoquer une maladie mineure (pharyngite, angine, impetigo) ou une maladie grave, invasive et menaçant le pronostic vital (cellulite, bactériémie, fasciite nécrosante, syndrome de choc toxique streptococcique). Environ 25 % des patients souffrant de fasciite nécrosante décèdent des suites de l'infection ; plus de 35 % des patients souffrant d'un syndrome de choc toxique streptococcique décèdent des suites de l'infection.[4] *Streptococcus pyogenes* peut être également présent chez des sujets asymptomatiques en bonne santé. Les études menées sur des cultures de prélèvements de gorge effectués au cours d'épidémies en milieu scolaire ont montré que la prévalence des porteurs sains pouvait atteindre 20 %.[3]

Les signes et symptômes de l'angine à streptocoques du groupe A recoupent souvent ceux d'autres infections, si bien que le diagnostic biologique est un outil important pour son identification et le traitement de l'infection. Les échantillons destinés aux tests de laboratoire doivent être obtenus par un écouvillonnage énergique des amygdales et du pharynx postérieur.[5] Un diagnostic de laboratoire traditionnel est réalisé par la recherche rapide des antigènes ou une culture sur gélose au sang de mouton, suivie d'une différentiation par agglutination au latex.[5] La spécificité des tests antigéniques est variable et la confirmation par cultures de frottis de gorge est recommandée en cas de résultats négatifs.[5] Les cultures après prélèvement de gorge peuvent être sensibles dans 90 % à 95 % des cas quand des techniques de prélèvement et d'étalement correctes sont utilisées.[3]

Les tests diagnostiques tels que les sondes ADN chimioluminescentes peuvent être aussi sensibles que les cultures standard de prélèvements de gorge sur gélose au sang de mouton.[5]

MATERIEL FOURNI
Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boite.
1. ***Système de préparation des échantillons II / Contrôle négatif III (SMP PREP) illumigene*:** solution tamponnée Tris contenant des *E. coli* traités au formaldéhyde et contenant de l'ADN de *S. aureus* ainsi que de azoturede sodium (0,09 %) comme agent de conservation.
2. ***Dispositif de test SGA illumigene*:** Un dispositif à deux chambres contenant les réactifs d'amplification lyophilisés (ADN polymérase, désoxynucléotide triphosphates) et, soit des amorces spécifiques des streptocoques du groupe A (Chambre de TEST), soit des amorces spécifiques de *Staphylococcus aureus* (Chambre de CONTROLE)**.**
3. **Tubes de traitement thermique *illumigene***

MATERIEL FOURNI SEPAREMENT
Kit de contrôle externe pour ***illumigene streptocoque*** de groupe A (SGA), numéro de référence: 279910

MATERIEL NON FOURNI
1. Gants jetables en latex, non poudrés
2. Embouts de pipettes résistant aux aérosols, sans ADNase/ARNase
3. Prélèvement des échantillons et système de transport
4. Écouvillons, tige en plastique cassable: rayonne, polyester ou nylon floqué
5. Milieu de transport non nutritif: Amies liquide, sans charbon; Liquide de Stuart

EQUIPEMENT NON FOURNI
1. Bain à sec avec élément thermique de 12 mm pouvant atteindre 95 C
2. Thermomètre numérique avec mémoire de température maximale/minimale (par ex., thermomètre étanche/antichoc Traceable® Lollipop™)
3. Agitateur-mélangeur Vortex
4. Minuteur
5. Micropipette d'une contenance de 50 µL
6. ***illumipro-10,*** Meridian Bioscience, Inc. Numéro de référence: 610172

PRECAUTIONS D'EMPLOI
1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Ne pas intervertir les systèmes de préparation des échantillons ou les dispositifs de tests entre les lots. Les tubes de traitement thermique sont interchangeables à condition de se trouver dans les limites de la date de péremption au moment de leur utilisation.
3. Suivre les consignes de sécurité biologique de niveau 2 et les bonnes pratiques de laboratoire pendant les tests.[6] Traiter tous les spécimens et tous les dispositifs de test comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Ne pas manger, boire ou fumer dans les espaces où les échantillons ou les réactifs du kit sont manipulés.
4. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons. Se laver minutieusement les mains après la manipulation.
5. Les programmes de contrôle de la qualité pour les laboratoires d'analyses moléculaires, y compris la bonne utilisation et l'entretien de l'équipement, doivent être suivis.[7]
6. Le dispositif de test ***illumigene*** streptocoque de groupe A contient des réactifs lyophilisés. Ne pas retirer la pochette de protection avant d'être prêt à effectuer le test.
7. Le dispositif de test ***illumigene*** streptocoque de groupe A est muni d'un loquet conçu pour éviter la contamination de la zone de test avec le produit d'amplification. NE PAS utiliser les dispositifs de test dont le loquet est brisé.
8. Jeter les dispositifs de test ***illumigene*** immédiatement après l'amplification en laissant le loquet bien en place. NE PAS ouvrir le dispositif de test après l'amplification. L'ouverture du dispositif après l'amplification peut contaminer la zone de test avec le produit d'amplification.

PHRASES DE RISQUE ET CONSEILS DE PRUDENCE
A notre connaissance, il n'y pas de risque connu associé à ce produit.

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE
La date de péremption figure sur l'étiquette du kit. Conserver le kit à une température comprise entre 2 et 27 C.

PREPARATION DES REACTIFS
S'assurer que les réactifs du kit sont à la température ambiante (21 à 27 C) avant leur emploi. On pourrait obtenir des résultats incorrects si les réactifs ne sont pas amenés à la température ambiante avant l'emploi.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS
Type d'échantillon: Prélèvements de gorge par écouvillons

Prélèvement des échantillons: Le recueil des prélèvements de gorge doit être effectué conformément aux directives de l'établissement pour le recueil des échantillons cliniques destinés à la mise en culture des streptocoques du groupe A. Les échantillons doivent être recueillis en frottant vigoureusement l'écouvillon sur les amygdales et la partie postérieure du pharynx.

Placer le ou les écouvillon(s) dans un milieu de transport non nutritif (par ex., des milieux Amies liquide sans charbon ou Liquide de Stuart) et le(s) transporter au laboratoire. Les échantillons doivent être maintenus entre 2 et 27 C pendant le transport.

Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 48 h à température ambiante (21 à 27 C) avant d'être analysés. Si l'on ne commence pas les tests dans ce délai, on peut conserver l'échantillon enrichi à une température de 2 à 8 C pendant sept jours maximum.

PREPARATION DES SPECIMENS
REMARQUE: s'assurer que l'instrument ***illumi****pro-10* est sous tension et que la vérification de ses performances a été accomplie avant le commencement de la PREPARATION DES SPECIMENS. Consulter le manuel de l'utilisateur de l'***illumi****pro-10* pour obtenir de plus amples renseignements sur l'installation et le fonctionnement de l'appareil.

1. Ajouter l'écouvillon de gorge au **SMP PREP** ***illumi****gene*. Briser la tige de l'écouvillon. Remettre en place et bien fermer le bouchon du **SMP PREP**. Passer le **SMP PREP** pendant au moins 10 secondes. Les échantillons maintenus dans le **SMP PREP** ***illumi****gene* peuvent être conservés entre 2 et 29 C pendant une période pouvant atteindre 2 heures avant traitement par la chaleur.
2. Enlever le bouchon de l'embout du **SMP PREP** et presser pour faire tomber cinq à 10 gouttes d'échantillon dans un tube de traitement thermique ***illumi****gene*.
3. Recommencer les étapes de préparation des échantillons pour tous les échantillons à traiter.
4. Chauffer chaque échantillon/contrôle dans un bain thermique à sec à 95 ± 5 C pendant 10 ± 2 minutes. Surveiller l'étape de traitement thermique à l'aide d'un thermomètre numérique et d'un minuteur.
5. Retirer chaque tube de traitement thermique du bain sec/chauffant. Les échantillons ayant été traités thermiquement peuvent être conservés entre 21 et 29 C pendant un maximum d'une heure avant d'être testés.

PROCEDURE DE TEST
REMARQUE: il est possible de traiter au maximum 10 échantillons lors d'un seul passage dans l'***illumi****pro-10*.

1. Passer au Vortex les échantillons traités thermiquement pendant environ 10 secondes.
2. Retirer un (1) dispositif de test ***illumi****gene* streptocoque de groupe A de sa pochette de protection pour chaque échantillon. Ouvrir le dispositif avec précaution en tenant les compartiments de sorte que le réactif lyophilisé ne tombe pas au moment de l'ouverture. Placer le dispositif sur une surface plane ou sur un support adapté au dispositif.
3. Transférer 50 µL de chaque échantillon traité thermiquement dans la chambre de TEST (bille blanche) du dispositif de test ***illumi****gene*. Veiller à ne pas introduire d'air supplémentaire dans le mélange réactif. À l'aide d'un embout de pipette neuf, transférer 50 µL de l'échantillon traité thermiquement dans la chambre de CONTRÔLE (perle jaune) d'un dispositif de test ***illumi****gene*. Veiller à ne pas introduire d'air supplémentaire dans le mélange réactif. Fermer le dispositif de test ***illumi****gene* et engager correctement le loquet.
4. Tapoter le dispositif sur la paillasse ou mélanger pour éliminer les bulles d'air. Observer soigneusement la dissolution de la bille de contrôle/test du dispositif de test, rechercher la présence de bulles d'air dans le tube et de liquide dans les bouchons du dispositif. En cas de billes non dissoutes, de bulles d'air ou de liquide dans les bouchons, tapoter le dispositif sur le dessus de la paillasse et répéter l'examen visuel.
5. Insérer chaque dispositif de test ***illumi****gene* dans l'***illumi****pro-10* et lancer la réaction d'amplification et la détection. Les résultats seront affichés à la fin de l'exécution du test.

INTERPRETATION DES RESULTATS

ID échantillon	Résultats indiqués	Interprétation
Spécimen du patient	POSITIF	L'échantillon contient l'ADN cible du *Streptococcus pyogenes*.
	NEGATIF	Aucun ADN de *Streptococcus pyogenes* détecté.
	NON VALIDE	**Résultat non exploitable. Recommencer le test à l'aide des échantillons d'origine.** Spécimen de patient inhibiteur, mauvaise préparation des échantillons, échec du réactif, panne de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle positif	POSITIF	Résultat de contrôle positif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct de l'***illumi****pro-10*.
	NEGATIF	**Résultat de contrôle non valide.** La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
	NON VALIDE	**Résultat non exploitable. Recommencer l'intégralité de l'analyse à l'aide des échantillons d'origine.** Mauvaise préparation des échantillons, échec du réactif, panne de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle négatif	POSITIF	**Résultat de contrôle non valide.** La première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.
	NEGATIF	Résultat de contrôle négatif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct de l'***illumi****pro-10*.
	NON VALIDE	**Résultat non exploitable. Recommencer l'intégralité de l'analyse à l'aide des échantillons d'origine.** Mauvaise préparation des échantillons, échec du réactif, panne de l'instrument ou échec du contrôle interne.
PUITS VIDE	AUCUN	Aucun dispositif de test ***illumi****gene* dans le puits de l'***illumi****pro-10*. **OU** Le dispositif de test ***illumi****gene* présent ne répond pas en raison d'une mauvaise préparation des échantillons, de saleté ou d'un mauvais positionnement du dispositif. **Recommencer le test à l'aide des échantillons d'origine.**

CONTROLE DE QUALITE
Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

1. Chaque dispositif contient une chambre de contrôle interne contrôlant l'inhibition de l'amplification, les réactifs de test et l'efficacité du traitement des échantillons.
2. L'étape du traitement thermique est surveillée avec un thermomètre et un minuteur externes. Utiliser la mémoire des températures maximum/minimum du thermomètre pour vérifier qu'une température de 95 ± 5 C est maintenue. Utiliser le minuteur pour vérifier que la durée du traitement thermique est de 10 ± 2 minutes.
3. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'emploi de matériels de contrôle. Les utilisateurs doivent suivre les directives locales, nationales ou fédérales appropriées relatives à l'exécution de contrôles de qualité externes.
4. Les réactifs de contrôle externes ***illumi****gene* pour le streptocoque de groupe A sont vendus séparément (référence 279910). Il est recommandé de vérifier la réactivité de chaque nouveau lot et chaque nouvel envoi de kit ***illumi****gene* de streptocoque de groupe A dès leur réception et avant l'emploi. Les tests de contrôle externes doivent être exécutés par la suite conformément aux directives locales, nationales et/ou fédérales. Le kit de test ***illumi****gene* streptocoque de groupe A ne doit pas être utilisé pour tester les patients si les contrôles externes ne fournissent pas de résultats corrects.
5. Utiliser un dispositif séparé pour chaque réactif de contrôle externe.

VALEURS ATTENDUES
L'incidence globale de *Streptococcus pyogenes* chez les patients testés au cours de l'étude clinique de 2012 a été de 14,6 % (116/796).

LIMITES DU TEST

1. Le test du streptocoque de groupe A par la technique de l'***illumi****gene* ne fait pas de distinction entre les organismes viables et non viables.
2. Les infections respiratoires peuvent être provoquées par des streptocoques appartenant à d'autres sérogroupes que le A ou par d'autres agents pathogènes. Ce dispositif ne fait pas la différence entre les porteurs sains et les sujets infectés.
3. L'utilisation d'antibiotiques ou de médicaments en vente libre peut arrêter la croissance du streptocoque en culture en dépit de la présence d'organismes détectés par des tests de recherche de leur acide nucléique.
4. Comme pour tous les tests diagnostiques, les résultats doivent être interprétés en les confrontant aux autres informations à la disposition du médecin.
5. Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X, tels qu'on les trouve dans les médicaments homéopathiques contre le rhume Zicam®, interfèrent avec le test ***illumi****gene* SGA.

PERFORMANCES DU TEST
Le test d'amplification de l'ADN du streptocoque du groupe A ***illumi**gene* a été évalué en 2012 par des centres de tests cliniques indépendants représentant des régions géographiquement distinctes à travers les États-Unis. L'information compilée de cette étude clinique est décrite ci-dessous.

Tableau 1. **Résumé des données de performance du test *illumi*gene SGA**

Streptocoques du groupe A Culture composite	***illumi*gene *SGA***		
	Positif	**Négatif**	**Total**
Positif	100	2	102
Négatif	16	680*	696
Total	116	682	798
			IC à 95 %
Sensibilité	100/102	**98,0 %**	93,1 à 99,5 %
Spécificité	680/696	**97,7 %**	96,3 à 98,6 %
Taux de résultats non valides	2/800	**0,3 %**	0,1 – 0,9%

***** Deux spécimens pour lesquels des résultats non valides ont été obtenus initialement se sont avérés négatifs après ré-analyse. Un total de 798 échantillons homologués ont été évalués avec le dispositif de test et différentes méthodes de culture bactérienne.

La méthode de culture composite a inclus la méthode de culture du centre clinique et une méthode de culture de référence réalisée par Meridian Bioscience. Le test de la culture des centres a été réalisé en appliquant directement l'échantillon de prélèvement de gorge alors que le test de la culture de référence a été utilisé en appliquant le milieu de transport de l'écouvillon. Les échantillons ont fourni des résultats considérés positifs pour le streptocoque du groupe A à partir des deux méthodes (méthode de culture des centres ou méthode de culture de référence)

Le tableau 2 et le tableau 3 résument l'information sur les performances par centre clinique. Les données des sites ont été analysées selon les méthodes de cultures composites et la méthode de culture du centre. Sept des 102 échantillons positifs de culture composite ont été positifs avec les seules méthodes de culture des sites; 26 des 102 échantillons positifs de culture composite ont été positifs par la seule méthode de culture de référence; les deux résultats faux-négatifs ***illumi**gene* ont été positifs uniquement avec la culture de référence réalisée par Meridian Bioscience. Une analyse statistique des données de performances des centres a été réalisée sans donner de différence significative entre les sites identifiés.

Tableau 2: Performance du test *illumi*gene SGA en fonction du centre; méthode de culture composite

	Échantillons positifs			**Échantillons négatifs**		
	***illumi*gene /Culture composite**	**% Sensibilité**	**IC à 95 %**	***illumi*gene /Culture composite**	**% Spécificité**	**IC à 95 %**
Total	**100/102**	**98,0 %**	**93,1 à 99,5 %**	**680/696**	**97,7 %**	**96,3 à 98,6 %**
Centre 1	47/47	100,0 %	92,4 à 100,0 %	287/291	98,6 %	96,5 à 99,5 %
Centre 2	28/30	93,3 %	78,7 à 98,2 %	204/212	96,2 %	92,7 à 98,1 %
Centre 3	25/25	100,0 %	86,7 à 100,0 %	189/193	97,9 %	94,8 à 99,2 %

Tableau 3: Performance du test *illumi*gene SGA en fonction du centre; méthodes de culture des centres

	Échantillons positifs			**Échantillons négatifs**		
	***illumi*gene /Culture par centre**	**% Sensibilité**	**IC à 95 %**	***illumi*gene /Culture par centre**	**% Spécificité**	**IC à 95 %**
Total	**74/74**	**100,0 %**	**95,1 à 100,0 %**	**682/724**	**94,2 %**	**92,3 à 95,7 %**
Centre 1	40/40	100,0 %	91,2 à 100,0 %	287/298	96,3 %	93,5 à 97,9 %
Centre 2	18/18	100,0 %	82,4 à 100,0 %	206/224	92,0 %	87,7 à 94,9 %
Centre 3	16/16	100,0 %	80,6 à 100,0 %	189/202	93,6 %	89,3 à 96,2 %

Soixante-douze (9,0 %) patients étaient âgés de deux ans ou moins. 385 (48,2 %) patients avaient entre deux et 12 ans; 259 (32,5 %) patients avaient plus de 12 ans, mais moins de 21 ans. Les 82 (10,3 %) patients restants étaient âgés de plus de 21 ans. L'âge de tous les patients était connu et a été inclus dans l'analyse des performances. Aucune différence de performance n'a été constatée en fonction de l'âge des patients.

La population de l'étude a inclus 410 (51,4 %) patients de sexe féminin et 386 (48,4 %) patients de sexe masculin. Le sexe n'était pas connu pour deux (0,2 %) participants de l'étude. Aucune différence de performance n'a été constatée en fonction du sexe des patients.

SENSIBILITE ANALYTIQUE
La sensibilité analytique ou Limite de détection du test par la technique ***illumi**gene* du streptocoque de groupe A a été déterminée pour toutes les souches et tous les sérotypes de *S. pyogenes*.

La Limite de détection a été déterminée à l'aide d'un minimum de 20 réplicats pour chaque mesure et une probabilité déclarée (par ex., 95 % lorsque 19 réplicats sur 20 étaient positifs) de réponses positives à obtenir. Les tests de sensibilité analytique sont résumés ci-dessous :

Description de la souche de *Streptococcus pyogenes*	**UFC/Test**
ATCC 12344	400
ATCC 19615	430

REACTIVITE DU TEST
Les souches suivantes de *S. pyogenes* ont été testées et ont donné des réactions positives au niveau ou en dessous de la limite déclarée du test, soit 400 UFC/Test avec le test ***illumi**gene* SGA: ATCC12384, NCIMB 13285, CCUG 33061, CCUG 33409, CCUG 39158, ATCC 49399, CCUG 53553.

REPRODUCTIBILITE DU TEST
Des panels de 10 échantillons codés en aveugle ont été fournies à trois laboratoires indépendants pour des études de reproductibilité. Les échantillons furent triés au hasard sur chaque microplaque afin de masquer les identités. Les panels testés ont inclus des échantillons préparés artificiellement, tels que des échantillons faiblement positifs (c'est-à-dire proches de la limite de détection du test, n=3) et des échantillons négatifs hauts (n=3). Les microplaques comprenaient aussi des échantillons rendus artificiellement positifs (n=3) et des échantillons naturellement négatifs (n=1). Les tests furent exécutés par des techniciens différents dans chaque centre, le même jour (variabilité intra-test), pendant cinq jours (variabilité inter-tests). Trois lots de *illumigene* streptocoque de groupe A et cinq instruments ***illumi**pro-10* ont été utilisés dans cette étude. Les contrôles positifs et négatifs furent testés chaque jour de test. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

	Centre clinique 1		**Centre clinique 2**		**Centre clinique 3**		**Total**	
Type d'échantillon	**Concordance en pourcentage**		**Concordance en pourcentage**		**Concordance en pourcentage**		**Concordance en pourcentage**	
Négatif	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %
Fortement négatif	29/30	96,7 %	30/30	100 %	28/30	93,3 %	87/90	96,7 %
Faiblement positif	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %
Positif	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %
Contrôle négatif	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %
Contrôle positif	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %

REACTIONS CROISEES
Des études de réactivité croisée ont été effectuées sur des spécimens positifs et négatifs, inoculés avec des organismes bactériens et fongiques de manière à obtenir une concentration finale de 1,2 x 10^8 UFC/mL. L'ADN humain a été testé à 0,02 mg/mL et aucune réactivité croisée n'a été constatée. Aucun des organismes suivants n'a réagi avec l' ***illumi**gene* streptocoque de groupe A:
Acinetobacter baumannii, Acinetobacter lwoffii, Aeromonas hydrophila, Arcanobacterium haemolyticum, Bordetella bronchiseptica, Bordetella holmesii, Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Burkholderia cepacia, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Corynebacteria diphteria, Corynebacterium pseudodiphtheriticum, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Legionella jordanis, Legionella micdadei, Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes, Moraxella catarrhalis, Morganella morganii, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus anginosus, Streptococcus bovis, Streptococcus canis, Streptococcus dysgalactiae (sous-espèce equisimilis), Streptococcus equinus, Streptocoques intermédius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus salivarius, Streptococcus suis, Streptococcus uberis, Streptococcus sp. type Viridans.

Deux germes ont produit des résultats inattendus au cours du test initial qui n'ont pas été confirmés ultérieurement. *Arcanobacterium haemolyticum* a produit des résultats faux-négatifs pour l'un des 13 réplicats testés. *Haemophilus influenzae* a produit des résultats faux-positifs pour l'un des 13 réplicats testés.

Mycoplasma pneumoniae a été testé à 1,5 x 10^6 UFC/mL sans provoquer de réaction du test ***illumi**gene* SGA.

TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES
Des tests de substances interférentes ont été réalisés en ajoutant des substances potentiellement interférentes diluées dans une solution salée stérile ou des échantillons artificiellement positifs (ATCC 12344, ATCC 19615) au **SMP PREP *illumi**gene***. Des écouvillons en rayonne inoculés avec une flore pharyngée négative et utilisant un milieu de transport Amies liquide ont été ajoutés au **SMP PREP *illumi**gene*** contenant potentiellement des substances interférentes, puis ils ont été testés.

Les substances biologiques suivantes, aux concentrations de saturation des solvants/diluants spécifiées, n'influencent pas les résultats de test: mucus (5,0 mg/mL), salive humaine (10 % v/v) et sang total (2,5 % v/v). Le sang entier à des concentrations supérieures à 2,5 % v/v peut interférer avec le test du streptocoque de groupe A par la technique ***illumi**gene*.

Les substances chimiques suivantes, aux concentrations de saturation des solvants/diluants spécifiées, n'influencent pas les résultats de test:
Acétaminophène (paracétamol) (19,5 mg/mL), Aspirine (12,3 mg/mL), bain de bouche Cepacol®, [chlorure de cetyopridinium (0,005 % v/v)], pastilles (losanges) pour maux de gorge Cepacol® [Benzocaïne (0,09 mg/mL), menthol (0,02 mg/mL)], anesthésique/analgésique oral Chloraseptic® [phénol (0,07 % v/v)], comprimés Contac® contre le rhume et la grippe [Acétaminophène (paracétamol) 16,2 mg/mL), maléate de chlorphéniramine (0,06 mg/mL), chlorhydrate de phényléphrine (0,16 mg/mL], dentifrice CREST® Complete Toothpaste [flurorure de sodium (0,1 mg/mL)], chlorhydrate de diphenhydramine (2,7 mg/mL), gouttes antitussives HALLS® [menthol (0,08 mg/mL)], Ibuprofène (15,6 mg/mL), bain de bouche antiseptique Listerine® [eucalyptol (0,0092 % v/v), menthol (0,0042 % v/v), méthyl salicylate (0,0060 % v/v), thymol (0,0064 % v/v), Sirop contre la toux /encombrement respiratoire Robitussin® [dextrométhorphane HBr (0,2 mg/mL), guaifenésine (2,0 mg/mL)].

Zicam® Oral Mist [Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X (0,625 % v/v)] a entraîné des résultats non valides dans tous les réplicats testés.

ESPAÑOL

illumigene®

Estreptococo Grupo A (Estrep Grupo A) Ensayo de amplificación de ADN

Ensayo de amplificación de ADN para la detección de *Streptococcus pyogenes* en muestras de exudado faríngeo

REF **280150** IVD **Dispositivo médico para diagnóstico in vitro**

USO INDICADO
El ensayo ***illumi****gene* para *Estreptococo* Grupo A (Estrep Grupo A), realizado en el ***illumi****pro-10*™, es una prueba de diagnóstico in vitro cualitativa para la detección de *Streptococcus pyogenes* (*Estreptococo* β-hemolítico Grupo *A*) en muestras de exudados faríngeos.

El ensayo ***illumi****gene para* Estrep Grupo A utiliza una tecnología de amplificación de ADN isotermal mediada por bucle (LAMP)[1, 2] para detectar el *Streptococcus pyogenes* al dirigirse a un segmento de genoma del *Streptococcus pyogenes*. Los resultados del ensayo de ***illumi****gene para* Estrep Grupo A pueden utilizarse como ayuda en el diagnóstico de la faringitis estreptocócica del Grupo A. El ensayo no está destinado a monitorizar el tratamiento de las infecciones por *Estreptococos* del Grupo A.

El ***illumi****gene* para estreptococos del grupo A es para uso en laboratorios de hospital, de referencia o estatales. El dispositivo no es para uso en punto-de-cuido.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA
El ensayo molecular ***illumi****gene* para *Estreptococo* Grupo A se basa en la tecnología de amplificación mediada por bucle (LAMP). El ensayo se dirige a una secuencia de 206 pares de bases (bp) altamente conservada del genoma del *Streptococcus pyogenes* que reside en una región del gen de la exotoxina pirogénica B (speB).

La amplificación mediada por bucle utiliza cebadores especialmente diseñados para proporcionar amplificación de ADN isotérmica específica y continua. Un subproducto de esta amplificación es el pirofosfato de magnesio, que forma un precipitado blanco que lleva a una solución de reacción turbia. Las características de absorción de la solución de reacción se monitorizan con el Lector/Incubadora Meridian ***illumi****pro-10*. Los cambios en las características de absorción de la solución de reacción que se generan a partir de la precipitación del pirofosfato de magnesio indican la presencia del ADN objetivo. La ausencia del ADN objetivo no tiene como resultado un cambio significativo en la absorción de la muestra.

El equipo de ***illumi****gene* para Estrep Grupo A incluye los aparatos de preparación de muestra ***illumi****gene* y los dispositivos de prueba de ***illumi****gene* para *Estreptococos* Grupo A. El aparato II de preparación de la muestra ***illumi****gene* usado para la dilución y la preparación de la muestra, está lleno de una solución tampón que contiene *E. coli* tratada con formalina que alberga ADN de *Staphylococcus aureus*. El dispositivo de prueba ***illumi****gene* para Estrep Grupo A contiene una microesfera de reactivo de amplificación liofilizado en cada una de las dos cámaras: una cámara de TEST con cebadores específicos para *Estreptococo* Grupo A y una cámara de CONTROL con cebadores específicos para *S. aureus*. El ADN de *S. aureus* en el aparato de preparación de la muestra y los cebadores específicos para el *S. aureus* en la cámara de CONTROL, funcionan como control interno para el ensayo. Durante la preparación de la muestra, cada muestra del paciente se añade al aparato II de preparación de la muestra y se combina con el ADN de *S. aureus* antes de la amplificación. La adición del ADN del *S. aureus* a la muestra del paciente permite el procesamiento paralelo del ADN objetivo y el ADN del control a través de la amplificación y detección.

El control interno monitoriza la inhibición de la amplificación, el rendimiento de los reactivos del ensayo y la eficacia del procesamiento de la muestra. El objetivo de control del *S. aureus* debe amplificarse y detectarse en la reacción final, o la prueba se considerará no válida y no se darán a conocer los resultados de la paciente.

El ***illumi****pro-10* monitoriza los cambios en las características de absorción a través de la medición de la transmisión de luz por las soluciones de reacción de Test y Control. La transmisión de luz es monitorizada en el Inicio del proceso ($Signal_{Initial}$, S_i) y en el Final del proceso ($Signal_{final}$, S_f) del ensayo. El ***illumi****pro-10* calcula el cambio en la transmisión de luz entre el Final del proceso y el Inicio del proceso (S_f:S_i) y compara el cociente con respecto a un valor de corte fijo.

Los valores de corte fijos de la cámara de TEST se utilizan para informar resultados de muestras. Los cocientes de la cámara de TEST S_f:S_i menores al 82 % se informan como «POSITIVOS»; los cocientes de la cámara de TEST S_f:S_i mayores o iguales al 82 % se informan como «NEGATIVOS». *Los valores numéricos no se informan.*

Los valores de corte fijos de la cámara de CONTROL se utilizan para determinar la validez. Los cocientes de la cámara de CONTROL S_f:S_i menores al 90 % se consideran válidos y permiten el informe de los resultados de la cámara de TEST (POSITIVOS, NEGATIVOS). Los cocientes de la cámara de CONTROL S_f:S_i mayores o igules al 90 % se consideran no válidos e impiden el informes de los resultados de la cámara de PRUEBA. Las reacciones no válidas de la cámara de CONTROL se informan como «NO VÁLIDAS». *Los valores numéricos no se informan.*

Los criterios de corte más rigurosos se aplican a la reacción de la cámara de CONTROL para garantizar que no se inhiba la amplificación, que los reactivos tengan el rendimiento esperado y que el procesamiento de muestras se haya realizado adecuadamente.

PRINCIPIOS BIOLOGICOS
Estreptococos Grupo A, o *Streptococcus pyogenes*, es una bacteria normalmente encontrada en la garganta humana o en la piel. *S. pyogenes* provoca una amplia variedad de enfermedades en humanos, siendo la más común la faringitis aguda o faringoamidgalitis. La faringitis se diagnostica cada año en aproximadamente 11 millones de pacientes en los Estados Unidos, siendo el *Estreptococos* Grupo A el que representa el 15 % al 30 % de los casos en niños y el 5 % al 20 % de los casos en los adultos.[3] La faringitis estreptocócica va acompañada con frecuencia por dolor de garganta, fiebre, exudado amigdalino y ganglios linfáticos cervicales agrandados.

Las infecciones del Estreptococos Grupo A puede producir enfermedad leve (p. ej. faringitis, impétigo) o puede dar lugar a una enfermedad invasiva, potencialmente mortal (p. ej. celulitis, bacteriemia, fascitis necrosante, síndrome del shock tóxico estreptocócico). Aproximadamente 25 % de los pacientes con fascitis necrosante morirán de la infección, más del 35 % de los pacientes con síndrome del shock tóxico estreptocócico mueren de la infección.[4] El *Streptococcus pyogenes* también puede presentarse en pacientes sanos, asintomáticos. Los estudios de cultivos faríngeos de niños sanos tomados durante los brotes epidémicos escolares han demostrado una prevalencia portadora de hasta el 20 %.[3]

Los signos y síntomas de la faringitis del *Estreptococos* Grupo A con frecuencia se superponen con otras infecciones, haciendo que el diagnóstico de laboratorio sea una herramienta importante para la identificación y tratamiento de la infección. Las muestras para la prueba de laboratorio deben obtenerse frotando enérgicamente ambas amígdalas y la faringe posterior.[5] El diagnóstico tradicional de laboratorio se realiza mediante una prueba de antígeno rápido o cultivo de agar en sangre de oveja seguido por la diferenciación con aglutinación de látex.[5] Las especificidades de las pruebas de antígeno rápido son variables y se recomienda la confirmación de los resultados negativos con el seguimiento del cultivo de exudado faríngeo.[5] Los cultivos de exudado faríngeo pueden ser 90 a 95 % sensitivos cuando se usan técnicas de muestreo y de placas de Petri correctas.[3]

Las pruebas diagnósticas como las sondas de ADN quimioluminiscentes pueden ser tan sensitivas como los cultivos de garganta estándar en agar en sangre de oveja.[5]

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS
El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.
1. **Aparato II de preparación de muestra *illumi****gene* / Control negativo III (SMP PREP):** Solución con tampón Tris que contiene *E. coli* tratada con formalina que alberga ADN de *S. aureus* y azida sódica (0,09 %) como conservante.
2. **Dispositivo de prueba *illumi****gene* para Estrep Grupo A:** Dispositivo de dos cámara que contiene reactivos de amplificación liofilizados (ADN polimerasa, desoxinucleótidos trifosfatos) y o bien cebadores específicos de *Estreptococos* Grupo A (cámara TEST) o cebadores específicos de *Staphylococcus aureus* (cámara CONTROL).
3. ***illumi****gene* **Tubos para el tratamiento térmico**

MATERIALES PROPORCIONADOS POR SEPARADO
illumi*gene Estreptococos* Grupo A (Estrep Grupo A) Kit de control externo, número de catálogo: 279910

MATERIALES NO PROPORCIONADOS
1. Guantes desechables de látex, sin polvo
2. Puntas de pipeta resistentes al aerosol, libres de ribonucleasa/desoxirribonucleasa
3. Sistema de recogida y transporte de muestras
4. Exudados, varilla de plástico que se puede romper: Rayón, poliéster o borra de nylon
5. Medio de transporte no nutritivo: líquido Amies, sin carbón; líquido Stuart

EQUIPO NO PROPORCIONADO
1. Baño seco con bloque de calor 12 mm capaz de 95 C
2. Termómetro digital con memoria de temperatura máx/mín (p. ej., termómetro sumergible y a prueba de golpes Traceable® Lollipop™)
3. Mezclador Vortex
4. Cronómetro de intervalos
5. Micropipeta capaz de administrar 50 µL
6. ***illumi**pro-10*™, Meridian Bioscience, Inc. Número de catálogo: 610172

PRECAUCIONES
1. Todos los reactivos son sólo para uso de diagnóstico in vitro.
2. No intercambie los aparatos de preparación de muestra o dispositivos de pruebas entre lotes. Los tubos de tratamiento térmico son intercambiables siempre y cuando se usen dentro de la fecha de caducidad asignada.
3. Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio y Bioseguridad de Nivel 2 durante la prueba.[6] Trate todas las muestras y los dispositivos de prueba como capaces de transmitir agentes infecciosos. No coma, beba ni fume en las zonas donde se manejan los reactivos del kit o las muestras.
4. Use guantes desechables cuando maneje las muestras y lávese bien las manos después.
5. Se deben emplear Programas de control de calidad para laboratorios de prueba molecular, incluido el uso y cuidado correctos del equipo.[7]
6. El dispositivo de prueba ***illumi**gene* para Estrep Grupo A contiene reactivos liofilizados. La bolsa de protección no debe abrirse hasta que esté listo para realizar el ensayo.
7. El dispositivo de prueba ***illumi**gene* para Estrep Grupo A incluye una característica de cierre que está diseñada para evitar la contaminación de la zona de prueba con el producto de amplificación. NO use dispositivos de prueba con cierres rotos.
8. Deseche los dispositivos de prueba usados de ***illumi**gene* inmediatamente después del proceso, poniendo el cierre del dispositivo en su lugar firmemente. NO abra el dispositivo de prueba después del procesamiento. Abrir el dispositivo después de la amplificación puede provocar una contaminación de la zona de prueba con el producto de amplificación.

FRASES DE RIESGO Y SEGURIDAD
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO
La fecha de caducidad se indica en la etiqueta del equipo. Almacene el equipo a una temperatura entre 2 y 27 C.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS
Asegúrese de que los reactivos del equipo están a temperatura ambiente (21-27 C) antes de su uso. Se pueden obtener resultados incorrectos si los reactivos no están a temperatura ambiente antes del uso.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA
Tipo de muestra: Exudados faríngeos

Toma de muestras: La toma de muestras de la faringe se debe realizar de acuerdo con las directrices institucionales para la toma de muestras clínicas para el cultivo de *Estreptococos* del Grupo A. Las muestras deben ser tomadas frotando enérgicamente las amígdalas y la faringe posterior.

Coloque el/los exudado(s) en un medio de transporte no nutritivo (p. ej., un líquido Amies, sin carbón, o líquido Stuart) y transpórtelo(s) al laboratorio. Las muestras se deben mantener a una temperatura entre 2 y 27 C durante el transporte.

Las muestras se pueden mantener a una temperatura entre 21 y 27 C durante 48 horas antes de correr la prueba. Si la prueba no se realiza en este tiempo, la muestra puede almacenarse a 2-8 C durante un máximo de siete días.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA
NOTA: Asegúrese de que el ***illumi**pro-10* está encendido y que se hayan completado las verificaciones de rendimiento necesarias antes de iniciar la PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. Consulte el Manual del operador de ***illumi**pro-10* para obtener más información acerca de la instalación y el funcionamiento del instrumento.
1. Añada el exudado faríngeo al ***illumi**gene* **SMP PREP**. Rompa el mango del exudado. Vuelva a colocar y asegurar el tapón de **SMP PREP**. Mezcle con vortex el **SMP PREP** durante un mínimo de 10 segundos. Las muestras en el ***illumi**gene* **SMP PREP** se pueden mantener a una temperatura entre 2 y 29 C hasta 2 horas antes del tratamiento térmico.
2. Retire la tapa de la punta del **SMP PREP** y ponga de cinco a diez gotas de muestra en un tubo de tratamiento térmico limpio ***illumi**gene*.
3. Repita los pasos de preparación de la muestra para todas las muestras que se van a procesar.
4. Caliente cada mezcla de muestra/control en un baño seco/bloqueador de calor a 95 ± 5 C durante 10 ± 2 minutos. Monitorice el paso de tratamiento térmico con un termómetro digital y un cronómetro de intervalos.
5. Saque cada tubo de tratamiento térmico del baño seco/calor. Las muestras tratadas térmicamente pueden mantenerse a una temperatura entre 21 y 29 C hasta una hora antes de la prueba.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA
NOTA: Se pueden correr un máximo de 10 muestras en cada proceso del ***illumi**pro-10*.
1. Mezcle en vortex las muestras tratadas térmicamente durante aproximadamente 10 segundos.
2. Saque 1 dispositivo de prueba ***illumi**gene* para Estrep Grupo A de su bolsa de protección por cada muestra. Abra el dispositivo cuidadosamente, sujetando las cámaras de tal modo que el reactivo liofilizado no se caiga al abrir el dispositivo. Coloque el dispositivo en una superficie plana o en un estante que pueda albergar el dispositivo.
3. Transfiera 50 µL de la muestra tratada térmicamente a la cámara TEST (microesfera blanca) del dispositivo de prueba ***illumi**gene*. Tenga cuidado de no introducir burbujas de aire en la mezcla de reacción. Usando una punta de pipeta nueva, transfiera 50 µL de la muestra tratada térmicamente a la cámara de CONTROL (microesfera amarilla) del dispositivo de prueba ***illumi**gene*. Tenga cuidado de no introducir burbujas de aire en la mezcla de reacción. Cierre el dispositivo de prueba ***illumi**gene* y asegure el cierre con firmeza.
4. Dé unos golpecitos en la parte superior del banco o mezcle para quitar las burbujas de aire. Examine con cuidado el dispositivo de prueba para la disolución de la microesfera de control/prueba, para las burbujas de aire que quedan en el tubo y el líquido en la parte superior del dispositivo. Si se advierten microesferas sin disolver, burbujas de aire o líquido, golpee el dispositivo sobre la parte superior del banco y repita la inspección visual.
5. Introduzca el dispositivo de prueba de ***illumi**gene* en el ***illumi**pro-10* e inicie la reacción de amplificación y detección. Los resultados se mostrarán al final del proceso.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

ID de la muestra	Resultado notificado	Interpretación
Muestra de la paciente	POSITIVO	La muestra contiene ADN objetivo del *Streptococcus pyogenes*.
	NEGATIVO	No se ha detectado ADN del *Streptococcus pyogenes*.
	NO VÁLIDO	**Sin resultados notificables. Repita la prueba usando la muestra original.** Muestra de la paciente inhibitoria, preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
Control positivo	POSITIVO	Resultado de control positivo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el ***illumi**pro-10* funciona correctamente.
	NEGATIVO	**Resultado de control incorrecto.** Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la faya. Si se repite la faya luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
	NO VÁLIDO	**Sin resultados notificables. Repita todo el proceso de ensayo usando las muestras originales.** Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
Control negativo	POSITIVO	**Resultado de control incorrecto.** Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de de la faya. Si se repite la faya luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.
	NEGATIVO	Resultado de control negativo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el ***illumi**pro-10* funciona correctamente.
	NO VÁLIDO	**Sin resultados notificables. Repita todo el proceso de ensayo usando las muestras originales.** Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
POCILLO VACIO	NINGUNO	No hay ningún dispositivo de prueba de ***illumi**gene* en el pocillo del ***illumi**pro-10*. **O** El dispositivo de prueba del ***illumi**gene* no funciona bien debido a un fallo en la preparación de la muestra o a que el dispositivo está sucio o mal colocado. **Repita la prueba usando la muestra original.**

CONTROL DE CALIDAD
Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.
1. Cada dispositivo contiene una cámara de control interno que controla la inhibición de la amplificación, la eficacia de los reactivos del ensayo y el procesamiento de la muestra.
2. El paso del tratamiento térmico se monitoriza con un termómetro externo y un cronómetro de intervalos. Use la memoria de temperatura máx/mín del termómetro para asegurarse de que se mantiene una temperatura de 95 ± 5 C. Use el cronómetro de intervalos para asegurarse de que la duración del tratamiento térmico es de 10 ± 2 minutos.
3. Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de materiales de control. Los usuarios deberían seguir las directrices federales, estatales y locales adecuadas relativas a la ejecución de controles de calidad externos.

4. Los reactivos de control externo de ***illumigene*** para Estreptococos Grupo A se suministran por separado (Catálogo 279910). Se recomienda que la reactividad de cada nuevo lote y cada nuevo envío de ***illumigene*** Estrep Grupo A se verifique a la recepción y antes de su uso. Se deberían realizar pruebas de control externo a partir de ese momento, de conformidad con las directrices federales, estatales y locales adecuadas. El equipo de prueba ***illumigene*** para Estrep Grupo A no debería usarse en la prueba de pacientes si los controles externos no ofrecen los resultados correctos.
5. Se debe usar un dispositivo aparte para cada reactivo de control externo.

VALORES ESPERADOS
La incidencia global de *Streptococcus pyogenes* en pacientes analizados durante el estudio clínico de 2012 fue 14,6 % (116/796).

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
1. El ensayo de ***illumigene*** para Estrep Grupo A no distingue entre organismos viables y no viables.
2. Las infecciones respiratorias pueden estar causadas por *Estreptococos* de serogrupos distintos al A, así como otros patógenos. Este dispositivo no diferencia entre individuos portadores e infectados.
3. El uso de antibióticos o medicamentos sin receta puede suprimir el crecimiento del *Estreptococos* en cultivo a pesar de la presencia de organismos detectables por las pruebas de ácido nucleico.
4. Como harán todas las pruebas diagnósticas, los resultados deben ser interpretados junto con otra información disponible para el médico.
5. Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X, como se encuentra en los remedios homeopáticos del resfriado de Zicam®, interfiere con el ensayo del ***illumigene*** para *Estreptococos* Grupo A.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO
El ensayo de amplificación del ADN ***illumigene*** para *Estreptococos* del Grupo A fue evaluado en 2012 por centros de pruebas clínicas independientes que geográficamente representan distintas regiones por todos los Estados Unidos. La información del estudio clínico compilada se describe abajo.

Tabla 1. Resumen de datos de rendimiento de *illumigene* para el Estrep Grupo A

***Estreptococos* Grupo A Cultivo compuesto**	***illumigene* para Estrep Grupo A**		
	Positivo	**Negativo**	**Total**
Positivo	100	2	102
Negativo	16	680*	696
Total	116	682	798
			IC 95 %
Sensitividad	100/102	**98,0 %**	93,1 – 99,5 %
Especificidad	680/696	**97,7 %**	96,3 – 98,6 %
Tasa de resultados no válidos	2/800	**0,3 %**	0,1 – 0,9 %

***** Dos muestras generaron resultados iniciales no válidos que fueron negativos en la repetición de la prueba. Se evaluó un total de 798 muestras cualificadas con el dispositivo de prueba y los métodos de cultivo bacteriano compuesto.

La prueba del método de cultivo compuesto incluía el método de cultivo del centro clínico y un método de cultivo de referencia realizado por Meridian Bioscience. La prueba del cultivo del centro fue realizada por preparación directa de placas de Petri de la muestra de exudado faríngeo mientras que la prueba del cultivo de referencia fue realizada por la preparación de placas de Petri del medio de transporte del exudado. Las muestras que producían resultados positivos del *Estreptococos* Grupo A del método de cultivo del centro o del método de cultivo de referencia fueron consideradas positivas.

La tabla 2 y la tabla 3 resumen la información de rendimiento por centro clínico. Se analizaron los datos del centro basándose en los métodos de cultivos compuestos y en el método de cultivo del centro. Siete de las 102 muestras positivas por cultivo compuesto fueron positivas mediante los métodos de cultivo del centro solamente; 26 de las 102 muestras positivas por cultivo compuesto fueron positivas solo por el método de cultivo de referencia; los dos resultados falsos negativos de ***illumigene*** fueron positivos sólo por el cultivo de referencia realizado por Meridian Bioscience. El análisis estadístico de los datos de rendimiento del centro fue realizado sin diferencias significativas entre los centros identificados.

Tabla 2: Rendimiento del ensayo con *illumigene* para Estep Grupo A por centros; Método de cultivo compuesto

	Muestras positivas			**Muestras negativas**		
	***illumigene* / Cultivo compuesto**	**% Sensitividad**	**IC 95 %**	***illumigene* / Cultivo compuesto**	**% Especificidad**	**IC 95 %**
Total	**100/102**	**98,0 %**	**93,1 - 99,5 %**	**680/696**	**97,7 %**	**96,3 – 98,6 %**
Centro 1	47/47	100,0 %	92,4 – 100,0 %	287/291	98,6 %	96,5 - 99,5 %
Centro 2	28/30	93,3 %	78,7 – 98,2 %	204/212	96,2 %	92,7 – 98,1 %
Centro 3	25/25	100,0 %	86,7 – 100,0 %	189/193	97,9 %	94,8 - 99,2 %

Tabla 3: Rendimiento del ensayo por centro de *illumigene* para Estrep Grupo A; Método de cultivo de centro

	Muestras positivas			**Muestras negativas**		
	***illumigene* / Cultivo de centro**	**% Sensitividad**	**IC 95 %**	***illumigene* / Cultivo de centro**	**% Especificidad**	**IC 95 %**
Total	**74/74**	**100,0 %**	**95,1 – 100,0 %**	**682/724**	**94,2 %**	**92,3 – 95,7 %**
Centro 1	40/40	100,0 %	91,2 – 100,0 %	287/298	96,3 %	93,5 – 97,9 %
Centro 2	18/18	100,0 %	82,4 – 100,0 %	206/224	92,0 %	87,7 – 94,9 %
Centro 3	16/16	100,0 %	80,6 – 100,0 %	189/202	93,6 %	89,3 – 96,2 %

Sententa y dos (9,0 %) pacientes analizados tenían 2 años de edad o eran menores; 385 (48,2 %) pacientes tenían entre dos y 12 años de edad; mientras que 259 (32,5 %) pacientes eran mayores de 12 años y menores de 21 años. Los restante 82 (10,3 %) pacientes del estudio eran mayores de 21 años. La información de la edad se conocía para todos los pacientes incluidos en el análisis de rendimiento. No se advirtieron diferencias de rendimiento basándose en la edad cronológica.

La población en estudio incluía 410 (51,4 %) mujeres y 386 (48,4 %) hombres. No se conocía el género para dos (0,2 %) de los participantes del estudio. No se advirtieron diferencias de rendimiento basadas en el género.

SENSITIVIDAD ANALÍTICA
Se determinó la sensitividad analítica o límite de detección para el ensayo con ***illumigene*** para *Estreptococos* de Grupo A para las cepas comunes de *S. pyogenes*.

El límite de detección se determinó usando un mínimo de 20 réplicas para cada cantidad sujeta a medida y una probabilidad determinada (p. ej. 95 %, donde 19/20 réplicas son positivas) de obtener respuestas positivas. La prueba de sensitividad analítica se resume a continuación:

***Streptococcus pyogenes* Descripción de cepa**	**CFU/Prueba**
ATCC 12344	400
ATCC 19615	430

REACTIVIDAD DEL ENSAYO
Se analizaron las siguientes cepas de *S. pyogenes* y produjeron reacciones positivas en el límite de ensayo indicado o por debajo del mismo detectado de 400 CFU/prueba con ***illumigene*** para Estrep. Grupo A: ATCC 12384, NCIMB 13285, CCUG 33061, CCUG 33409, CCUG 39158, ATCC 49399, CCUG 53553.

REPRODUCIBILIDAD
Los paneles codificados ciegos de 10 muestras se enviaron a tres laboratorios independientes para estudios de reproducibilidad. Las muestras se eligieron aleatoriamente dentro de cada panel para enmascarar las identidades de las muestras. Los paneles incluidos muestras ingeniadas producidas como muestras positivas bajas (esto es, cerca del límite de detección del ensayo, n=3) y muestras negativas altas (n=3). Los paneles también incluían muestras positivas ingeniadas (n=3) y muestras negativas naturales (n=1). La prueba fue realizada por diferentes operadores en cada centro el mismo día (variabilidad intraensayo) durante cinco días (variabilidad interensayo). En este estudio se usaron tres lotes de ***illumigene*** para Estrep Grupo A y cinco instrumentos ***illumipro-10***. Se probaron los controles negativos y positivos cada día de pruebas. Los resultados aparecen en la tabla que sigue:

	Centro clínico 1		**Centro clínico 2**		**Centro clínico 3**		**Total**	
Tipo de muestra	**Acuerdo en porcentaje**		**Acuerdo en porcentaje**		**Acuerdo en porcentaje**		**Acuerdo en porcentaje**	
Negativo	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %
Negativo alto	29/30	96,7 %	30/30	100 %	28/30	93,3 %	87/90	96,7 %
Positivo bajo	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %
Positivo	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %
Control negativo	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %
Control positivo	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %

REACTIVIDAD CRUZADA
Se realizaron estudios de reactividad cruzada con muestras positivas y negativas inoculadas con organismos micóticos y bacterianos para una concentración final de 1,2 x 10^8 CFU/mL. El ADN humano se probó con 0,02 mg/mL sin observarse reactividad cruzada. Ninguno de los siguientes organismos reaccionó con ***illumigene*** para Estrep Grupo A:

Acinetobacter baumannii, Acinetobacter lwoffii, Aeromonas hydrophila, Arcanobacterium haemolyticum, Bordetella bronchiseptica, Bordetella holmesii, Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Burkholderia cepacia, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Corynebacterium diphtheria, Corynebacterium pseudodiphtheriticum, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Legionella jordanis, Legionella micdadei, Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes, Moraxella catarrhalis, Morganella morganii, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus anginosus, Streptococcus bovis, Streptococcus canis, Streptococcus dysgalactiae (subespecie equisimilis), Streptococcus equinus, Streptococcus intermedius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus salivarius, Streptococcus suis, Streptococcus uberis, Streptococcus sp. tipo viridans.

Dos organismos produjeron resultados inesperados durante la prueba inicial que no fueron confirmados por pruebas posteriores. *Arcanobacterium haemolyticum* produjo resultados de falso negativo para una de 13 réplicas probadas. *Haemophilus influenzae* produjo resultados de falso positivo para una de las 13 réplicas probadas

Mycoplasma pneumoniae se probó a 1,5 x 10^6 CFU/mL sin reacción con el ensayo ***illumi****gene* para Estrep Grupo A.

PRUEBAS PARA SUSTANCIAS INTERFERENTES
La prueba para sustancias interferentes se realizó añadiendo sustancias potencialmente interferentes diluidas en solución salina estéril o muestras positivas ingeniadas (ATCC 12344, ATCC 19615) al ***illumi****gene* **SMP PREP**. Los exudados de rayón inoculados con flora faríngea negativa y medio de transporte líquido Amies se añadieron al ***illumi****gene* **SMP PREP** que contenía sustancias potencialmente interferentes y se probaron.

Las siguientes sustancias biológicas, en las concentraciones de solvente/diluyente saturadas que se especificaron, no interfirieron en los resultados de la prueba: Mucosidad (5,0 mg/mL), saliva humana (10 % v/v) y sangre completa (2,5 % v/v). La sangre completa en concentraciones superiores a 2,5 % v/v puede interferir con el ensayo ***illumi****gene* para Estrep Grupo A.

Las siguientes sustancias químicas, en las concentraciones de solvente/diluyente saturadas que se especificaron, no interfirieron en los resultados de la prueba:
Acetaminofén (19,5 mg/mL), Aspirina (12,3 mg/mL), colutorio Cepacol®, [Cloruro de cetilpiridinio (0,005 % v/v)], Pastillas para la garganta Cepacol® [Benzocaína (0,09 mg/mL), Mentol (0,02 mg/mL)], anestésico/analgésico oral Chloraseptic® [fenol (0,07 % v/v)], pastillas para resfriada + gripe Contac® [Acetaminofén 16,2 mg/mL), maleato de clorfeniramina (0,06 mg/mL), Fenilefrina HCl (0,16 mg/mL], Pastas de dientes completa Crest® [fluoruro sódico (0,1 mg/mL)], Difenhidramina HCl (2,7 mg/mL), pastillas para la tos HALLS® [Mentol (0,08 mg/mL)], Ibuprofeno (15,6 mg/mL), colutorio antiséptico Listerine® [Eucaliptol (0,0092 % v/v), Mentol (0,0042 % v/v), salicilato de metilo (0,0060 % v/v), Timol (0,0064 % v/v), Robitussin® jarabe contra la tos/ congestión torácica [Dextrometorfano HBr (0,2 mg/mL), Guaifenesina (2,0 mg/mL)].

Zicam® vaporización oral [Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X (0,625 % v/v)] produjeron resultados no válidos en todas las réplicas probadas.

DEUTSCH

illumigene®

Streptococcus Gruppe *A* (Strep Gruppe A) DNA-Amplifikations-Assay

DNA-Amplifikations-Assay zum Nachweis von *Streptococcus pyogenes* in Rachenabstrichproben

REF **280150** IVD **In-vitro-Diagnostikum**

VERWENDUNGSZWECK
Der auf dem ***illumi****pro-10*™ durchgeführte Assay ***illumi****gene Streptococcus* Gruppe A (Strep Gruppe A) ist ein qualitatives In-vitro-Diagnostikum zum Nachweis von *Streptococcus pyogenes* (β-hämolytischer *Streptococcus* der Gruppe A) in Rachenabstrichproben.

Der Nachweis von *Streptococcus pyogenes* mit dem ***illumi****gene*-Strep Gruppe A-Assay beruht auf der mittels eines Loops initiierten isothermen DNA-Amplifikations-Technologie (loop-mediated isothermal DNA amplification, LAMP)[1,2], wobei das Ziel ein Segment des *Streptococcus pyogenes*-Genoms ist. Ergebnisse des ***illumi****gene*-Strep Gruppe A-Assays können als diagnostisches Hilfsmittel zur Diagnose einer durch Gruppe-A-*Streptokokken* verursachten Pharyngitis eingesetzt werden. Der Assay ist nicht zur Überwachung der Behandlung von Infektionen bestimmt, die durch Gruppe-A-*Streptokokken* verursacht werden.

illumi*gene* Strep Gruppe A soll nur in Krankenhaus-Labors, Staatlichen oder Referenz-Labors verwendet werden. Der Test soll nicht für die „Point-of-Care-Diagnostik" verwendet werden (am Krankenbett, Arztpraxis).

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS
Der molekulare Assay ***illumi****gene Streptococcus* Gruppe A basiert auf der „Loop-Mediated-Amplification"(LAMP)-Methode. Ziel des Assays ist eine hoch konservierte Sequenz von 206 Basispaaren des *Streptococcus pyogenes*-Genoms in einer Region des pyrogenen Exotoxin-B-Gens (speB).

Bei der „Loop-Mediated Amplification" werden spezielle Primer verwendet, um eine spezifische und kontinuierliche isotherme DNA-Amplifizierung zu erzielen. Ein Nebenprodukt der Amplifikation ist Magnesiumpyrophosphat, das einen weißen Niederschlag bildet, wodurch eine trübe Reaktionslösung entsteht. Die Absorptionsmerkmale der Reaktionslösung werden vom Meridian-Inkubator/-Lesegerät ***illumi****pro-10* überwacht. Die durch den Niederschlag von Magnesiumpyrophosphat erzeugten Änderungen der Absorptionsmerkmale der Reaktionslösung deuten auf die Anwesenheit der Ziel-DNA hin. Die Abwesenheit von Ziel-DNA bewirkt keine signifikante Änderung der Absorption des Probenmaterials.

Der ***illumi****gene*-Strep Gruppe A-Kit umfasst die ***illumi****gene*-Probenvorbereitungsapparate und die ***illumi****gene*-Strep Gruppe A-Testgeräte. Der zur Probenverdünnung und -vorbereitung verwendete ***illumi****gene*-Apparat II ist mit einer gepufferten Lösung gefüllt, die mit Formalin behandelte *E. coli* enthält, welche DNA von *Staphylococcus aureus* beherbergen. Das Testgerät für den ***illumi****gene* Strep-Gruppe-A-Assay enthält ein lyophilisiertes Amplifikationsreagenz-Bead in jeder von zwei Kammern: einer TEST-Kammer mit *Streptococcus*-Gruppe-A-spezifischen Primern und einer KONTROLL-Kammer mit *S. aureus*-spezifischen Primern. Zusammen funktionieren die *S. aureus*-DNA im Probenvorbereitungsapparat und die *S. aureus*-spezifischen Primer in der KONTROLL-Kammer als interne Kontrolle für den Assay. Während der Probenvorbereitung wird jede Patientenprobe dem Probenvorbereitungsapparat II beigegeben und vor der Amplifikation mit *S. aureus*-DNA kombiniert. Die Zugabe von *S. aureus*-DNA zur Patientenprobe ermöglicht die parallele Verarbeitung von Ziel-DNA und Kontroll-DNA durch Amplifikation und Detektion.

Die Inhibition der Amplifikation, Leistung der Assayreagenzien und Wirksamkeit der Probenverarbeitung werden von der internen Kontrolle überwacht. Das Kontroll-*S. aureus*-Ziel muss amplifiziert und in der endgültigen Reaktion erkannt werden, oder der Test wird als ungültig erachtet und die Patientenergebnisse werden nicht berichtet.

Zur Überwachung der Änderungen der Absorptionsmerkmale misst der ***illumi****pro-10* den Lichtdurchlass durch die Test- und Kontroll-Reaktionslösungen. Der Lichtdurchlass wird zu Beginn des Testlaufs ($Signal_{initial}$, S_i) und am Ende des Testlaufs ($Signal_{final}$, S_f) kontrolliert. Die Änderung des Lichtdurchlasses zwischen Beginn und Ende des Laufs (S_f:S_i) wird vom ***illumi****pro-10* gemessen, und das Verhältnis wird mit einem festgelegten Cutoff-Wert verglichen.

Die Probenergebnisse werden anhand festglegter Cutoff-Werte für die TEST-Kammer gemeldet. Wenn das TEST-Kammer-Verhältnis S_f:S_i weniger als 82 % beträgt, wird es als „POSITIV" gemeldet; wenn das TEST-Kammer-Verhältnis S_f:S_i 82 % oder mehr beträgt, wird es als „NEGATIV" gemeldet. *Es werden keine numerischen Werte gemeldet.*

Die Gültigkeit wird anhand fester Cutoff-Werte für die KONTROLL-Kammer beurteilt. KONTROLL-Kammer-Verhältnisse S_f:S_i von weniger als 90 % werden als gültig betrachtet und sind Voraussetzung für die Meldung von Ergebnissen (POSITIV, NEGATIV) für die TEST-Kammer. Wenn das KONTROLL-Kammer-Verhältnis S_f:S_i 90 % oder mehr beträgt, wird es als ungültig betrachtet, und es werden keine Ergebnisse für die TEST-Kammer gemeldet. Ungültige Ergebnisse für die KONTROLL-Kammer werden als „UNGÜLTIG" gemeldet. *Es werden keine numerischen Werte gemeldet.*

Die Cutoff-Kriterien für die KONTROLL-Kammer sind strenger, um zu gewährleisten, dass die Amplifikation nicht gehemmt wird, dass die Reagenzien bestimmungsgemäß funktionieren und dass die Probenverarbeitung sachgemäß durchgeführt wurde.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN
Streptococcus Gruppe A bzw. *Streptococcus pyogenes* ist ein Bakterium, das beim Menschen häufig im Rachen oder auf der Haut zu finden ist. *S. pyogenes* verursacht beim Menschen eine Vielzahl von Erkrankungen, wovon die häufigste die akute Pharyngitis bzw. Halsentzündung ist. Die Diagnose einer Pharyngitis wird in den USA jährlich bei etwa 11 Millionen Patienten gestellt. Gruppe-A-*Streptokokken* sind für 15 % bis 30 % der Fälle bei Kindern verantwortlich und für 5 % bis 20 % der Fälle bei Erwachsenen.[3] Eine *Streptokokken*-Pharyngitis geht oft mit Halsentzündung, Fieber, Tonsillenexudat und vergrößerten zervikalen Lymphknoten einher.

Gruppe-A-*Streptokokkeninfektionen* können zu einer leichten Erkrankung (z. B. Pharyngitis, Impetigo) führen oder eine invasive, lebensbedrohliche Erkrankung (z. B. Cellulitis, Bakteriämie, nekrotisierende Fasziitis, durch *Streptokokken* induziertes toxisches Schocksyndrom) verursachen. Etwa 25 % der Patienten mit nekrotisierender Fasziitis sterben an der Infektion; beim *streptokokken*-induzierten toxischen Schocksyndrom liegt der Prozentsatz, der an der Infektion versterbenden Patienten bei 35 %.[4] Auch gesunde, asymptomatische Personen können Träger von *Streptococcus pyogenes* sein. Untersuchungen von Rachenkulturen, die bei gesunden Kindern während Infektionsausbrüchen in der Schule entnommen wurden, zeigten eine Trägerprävalenz von bis zu 20 %.[3]

Anzeichen und Symptome einer Gruppe-A-Streptokokken-Pharyngitis fallen häufig mit anderen Infektionen zusammen, sodass die Labordiagnose ein wichtiges Werkzeug zur Erkennung und Behandlung von Infektionen darstellt. Proben für Laboruntersuchungen sollten durch kräftiges Abreiben der Tonsillen und der Pharynxhinterwand gewonnen werden.[5] Die herkömmliche Labordiagnose wird durch Antigen-Schnelltest oder Kultur auf Schafblutagar mit anschließender Differenzierung durch Latexagglutination durchgeführt.[5] Die Spezifität von Antigen-Schnelltests ist unterschiedlich und eine Bestätigung von negativen Ergebnissen durch eine weitere Rachenabstrichkultur ist empfehlenswert.[5] Rachenabstrich-Kulturen können bei korrekten Probennahme- und Auftragungsmethoden eine Sensitivität von 90 bis 95 % aufweisen.[3]

Diagnostische Tests wie chemilumineszente DNA-Sonden können ebenso sensitiv wie Standard-Rachenkulturen auf Schafblutagar sein.[5]

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

1. ***illumigene*-Probenvorbereitungsapparat II/Negativkontrolle III (SMP PREP):** Trisgepufferte Lösung mit formalinbehandelten *E. coli*, die *S. aureus*-DNA beherbergen; die Lösung enthält Natriumazid (0,09 %) als Konservierungsmittel.
2. ***illumigene*- Strep Gruppe A -Testgerät:** Gerät mit zwei Kammern, das lyophilisierte Amplifikationsreagenzien (DNA-Polymerase, Deoxynucleotidtriphosphate) und entweder Strep Gruppe A -spezifische Primer (TEST-Kammer) oder *Staphylococcus aureus*-spezifische Primer (KONTROLL-Kammer) enthält**.**
3. ***illumigene*-Hitzebehandlungsröhrchen**

SEPARAT GELIEFERTE MATERIALIEN

illumigene Streptococcus Gruppe *A* (Strep Gruppe A) Externer Kontrollkit, Bestellnummer: 279910

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Einweg-Latexhandschuhe, ungepudert
2. DNase/RNase-freie, aerosolbeständige Pipettenspitzen
3. Probennahme und Transportsystem
4. Abstrichtupfer, zerbrechlicher Stiel aus Kunststoff: Rayon, Polyester oder beflocktes Nylon
5. Nicht-nutritives Transportmedium: Liquid Amies ohne Kohle, Liquid Stuart

NICHT MITGELIEFERTE AUSRÜSTUNG

1. Trockenbad mit 12-mm-Heizblock zur Erhitzung auf 95 C
2. Digitalthermometer mit Max-/Min-Temperaturspeicher (z. B. wasserdichtes/ stoßfestes Thermometer Traceable® Lollipop™)
3. Vortex-Mixer
4. Intervall-Stoppuhr
5. 50-µL-Mikropipette
6. ***illumipro-10*™,** Bestellnummer von Meridian Bioscience, Inc.: 610172

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Keine Probenvorbereitungsapparate oder Testgeräte unterschiedlicher Chargen verwenden. Die Hitzebeandlungsröhrchen sind austauschbar, sofern sie innerhalb des angegebenen Verfallsdatums verwendet werden.
3. Während des Tests Verfahren gemäß der Biosicherheitsstufe 2 und Grundsätze der Guten Laborpraxis befolgen.[6] Alle Proben und verwendeten Testgeräte als potenzielle Überträger von Infektionserregern behandeln. In den Bereichen, in denen die Proben und Reagenzien der Kits bearbeitet werden, darf weder gegessen, noch getrunken oder geraucht werden.
4. Bei der Handhabung der Proben sind Einweghandschuhe zu tragen. Nach der Arbeit sind die Hände gründlich zu waschen.
5. Qualitätskontrollprogramme für Labors für molekulare Diagnostik, einschließlich der korrekten Verwendung und Pflege der Geräte, sind anzuwenden.[7]
6. Das ***illumigene*-Strep Gruppe A-Testgerät enthält lyophilisierte Reagenzien. Der Schutzbeutel darf erst dann geöffnet werden, wenn der Assay durchgeführt wird.
7. Das ***illumigene*-Strep Gruppe A-Testgerät ist mit einer Sperrvorrichtung ausgestattet, um eine Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt zu verhindern. Testgeräte mit defekter Sperrvorrichtung NICHT verwenden.
8. Gebrauchte ***illumigene*-Testgeräte sofort nach Gebrauch entsorgen und die Sperrvorrichtung sicher arretieren. Das Testgerät nach der Verarbeitung NICHT öffnen. Öffnen des Geräts nach der Amplifikation kann zur Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt führen.

GEFAHREN – UND SICHERHEITSANGABEN

Es gibt keine bekannten Gefahren, die mit diesem Produkt verbunden sind.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Kits angegeben. Kit bei 2 - 27 C aufbewahren.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Sicherstellen, dass Kitreagenzien vor Gebrauch Raumtemperatur (21 - 27 C) haben. Werden die Reagenzien vor Gebrauch nicht auf Raumtemperatur gebracht, kann es zu falschen Ergebnissen kommen.

PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

Probentyp: Rachenabstrichtupfer

Probennahme: Die Gewinnung von Rachenabstrichen sollte im Einklang mit den Richtlinien der Einrichtung zur Gewinnung von klinischen Proben für die Kultivierung von Gruppe-A-*Streptokokken* erfolgen. Die Proben sind durch kräftiges Abreiben der Tonsillen und Rachenhinterwand zu gewinnen.

Abstrichtupfer in ein nicht-nutritives Transportmedium (z. B. Liquid Amies ohne Kohle oder Liquid Stuart) legen und ins Labor bringen. Während des Transports der Proben sollte die Temperatur 2 - 27 C betragen.

Die Proben können bei 21 - 27 C bis zu 48 Stunden vor dem Test aufbewahrt werden. Wir der Test nicht während dieser Zeit begonnen, können die Proben bis zu sieben Tage bei 2 - 8 C aufbewahrt werden.

PROBENNAHME UND - VORBEREITUNG

HINWEIS: Darauf achten, dass der ***illumipro-10*** eingeschaltet ist und die erforderlichen Leistungsüberprüfungen vor Beginn der PROBENVORBEREITUNG durchgeführt wurden. Weitere Informationen zur Einrichtung und zum Betrieb des Geräts finden Sie im ***illumipro-10*-Bedienerhandbuch.**

1. Geben Sie den Rachenabstrichtupfer in den ***illumigene* SMP PREP**. Brechen Sie den Stiel des Tupfers ab. Setzen Sie die Kappe des **SMP PREP** wieder fest auf. Vortexieren Sie den **SMP PREP** mindestens 10 Sekunden lang. Proben im ***illumigene* SMP PREP** können bis zu 2 Stunden vor der Hitzebehandlung bei 2 - 29 C aufbewahrt werden
2. Entfernen Sie die Kappe vom **SMP PREP** und drücken Sie fünf bis zehn Tropfen Probe in ein sauberes ***illumigene*-Hitzebehandlungsröhrchen.**
3. Wiederholen Sie die Probenvorbereitungsschritte für alle zu verarbeitenden Proben.
4. Erhitzen Sie jede Proben-/Kontrollmischung in einem Trockenbad/Heizblock 10 ± 2 Minuten bei 95 ± 5 C. Überwachen Sie den Hitzebehandlungsschritt mit dem Digitalthermometer und der Intervall-Stoppuhr.
5. Nehmen Sie jedes Hitzebehandlungsröhrchen aus dem Trockenbad/Heizblock. Hitzebehandelte Proben können bis zu einer Stunde vor dem Test bei 21 - 29 C aufbewahrt werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

HINWEIS: In einem Lauf auf dem ***illumipro-10*** können maximal 10 Proben verarbeitet werden.

1. Vortexieren Sie die hitzebehandelten Proben etwa 10 Sekunden lang.
2. Nehmen Sie für jede Probe ein ***illumigene*- Strep Gruppe A -Testgerät aus dem Schutzbeutel. Öffnen Sie vorsichtig das Gerät und halten Sie die Kammern so, dass das lyophilisierte Reagenz beim Öffnen nicht herausfällt. Setzen Sie das Gerät auf eine ebene Oberfläche oder in einen für das Gerät passenden Probenständer.**
3. Überführen Sie 50 µL der hitzebehandelten Probe in die TEST-Kammer (weißes Bead) des ***illumigene*-Testgeräts. Achten Sie darauf, dass keine Luft von außen in das Reaktionsgemisch kommt. Nehmen Sie eine neue Pipettenspitze und überführen Sie 50 µL der hitzebehandelten Probe in die KONTROLL-Kammer (gelbes Bead) des ***illumigene*-Testgeräts. Achten Sie darauf, dass keine Luft von außen in das Reaktionsgemisch kommt. Schließen Sie das ***illumigene*-Testgerät und verschließen Sie die Sperrvorrichtung sicher.**
4. Klopfen Sie das Gerät leicht auf die Arbeitsfläche auf oder schwenken Sie es, um Luftblasen zu entfernen. Überprüfen Sie das Gerät sorgfältig auf die Auflösung des Kontroll-/Test-Beads sowie auf Luftblasen im Röhrchen und Flüssigkeit im oberen Teil des Geräts. Falls nicht gelöste Beads, Luftblasen oder Flüssigkeit zu erkennen sind, klopfen Sie das Gerät vorsichtig auf die Arbeitsfläche und wiederholen Sie die Sichtkontrolle.
5. Geben Sie das ***illumigene*-Testgerät in den ***illumipro-10*** und starten Sie die Amplifikationsreaktion und -detektion. Die Ergebnisse werden am Ende des Laufs angezeigt.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Proben-ID	Ausgewiesenes Ergebnis	Auswertung
Patientenprobe	POSITIV	Probe enthält *Streptococcus pyogenes*-Ziel-DNA.
	NEGATIV	Keine *Streptococcus pyogenes*-DNA nachgewiesen.
	UNGÜLTIG	**Kein meldefähiges Ergebnis. Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der Originalprobe.** Hemmende Patientenprobe, falsche Probenvorbereitung, fehlerhaftes Reagenz, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Positivkontrolle	POSITIV	Gültiges positives Kontrollergebnis. Reagenzien sind zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv, ***illumi**pro-10* funktioniert korrekt.
	NEGATIV	**Falsches Kontrollergebnis.** Die Kontrolltests wiederholen. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitte rufen Sie den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Auslieferer
	UNGÜLTIG	**Kein meldefähiges Ergebnis. Wiederholen Sie den gesamte Assay-Lauf unter Verwendung von Originalproben.** Falsche Probenvorbereitung, fehlerhaftes Reagenz, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Negativkontrolle	POSITIV	**Falsches Kontrollergebnis.** Die Kontrolltests wiederholen. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitte rufen Sie den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Auslieferer
	NEGATIV	Gültiges negatives Kontrollergebnis. Reagenzien sind zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv, ***illumi**pro-10* funktioniert korrekt.
	UNGÜLTIG	**Kein meldefähiges Ergebnis. Wiederholen Sie den gesamte Assay-Lauf unter Verwendung von Originalproben.** Falsche Probenvorbereitung, fehlerhaftes Reagenz, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
LEERER SCHACHT	KEINE/R	Kein ***illumi**gene*-Testgerät im ***illumi**pro-10*-Schacht. **ODER** Das vorhandene ***illumi**gene*-Testgerät ist aufgrund fehlerhafter Probenvorbereitung, eines verunreinigten Geräts oder falsch aufgestellten Geräts beeinträchtigt. **Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der Originalprobe.**

QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

1. Jedes Gerät enthält eine interne Kontrollkammer, die die Amplifikationsinhibition, Assayreagenzien und Effizienz der Probenverarbeitung überwacht.
2. Der Hitzebehandlungsschritt wird mit einem externen Thermometer und einer Intervall-Stoppuhr überwacht. Verwenden Sie den Max-/Min-Temperaturspeicher des Thermometers, um sicherzustellen, dass eine Temperatur von 95 ± 5 C aufrecht erhalten bleibt. Verwenden Sie die Intervall-Stoppuhr, um sicherzustellen, dass die Dauer der Hitzebehandlung 10 ± 2 Minuten beträgt.
3. Gemäß Guter Laborpraxis ist die Anwendung von Kontrollmaterialien empfohlen. Anwender sollten die entsprechenden bundesstaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien zur Mitführung von externen Qualitätskontrollen befolgen.
4. Externe Kontrollreagenzien für den ***illumi**gene Streptococcus* Gruppe A werden separat geliefert (Bestellnr. 279910). Es wird empfohlen, die Reaktivität jeder neuen Charge und jeder neuen Lieferung von ***illumi**gene* Gruppe A Strep beim Empfang und vor Gebrauch zu überprüfen. Externe Kontrolltests sind danach gemäß bundestaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien durchzuführen. Der Testkit für den ***illumi**gene* Strep Gruppe A sollte nicht für Tests an Patienteproben verwendet werden, wenn die externen Kontrollen nicht die richtigen Ergebnisse erzeugen.
5. Für jedes Kontrollreagenz muss ein separates Gerät verwendet werden.

ERWARTETE WERTE

Die Gesamtinzidenz von *Streptococcus pyogenes* bei Patienten, die in der klinischen Studie 2012 untersucht wurden, lag bei 14,6 % (116/796).

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Der Assay ***illumi**gene* Strep Gruppe A unterscheidet nicht zwischen lebensfähigen und nicht-lebensfähigen Organismen.
2. Atemwegsinfektionen können durch *Streptokokken* anderer Serogruppen als der Gruppe A sowie durch andere Erreger verursacht werden. Dieses Gerät unterscheidet nicht zwischen Trägern und infizierten Personen.
3. Die Anwendung von Antibiotika oder rezeptfreien Medikamenten kann das *Streptokokkenwachstum* in Kultur unterdrücken, auch wenn durch Nukleinsäuretests nachweisbare Organsimen anwesend sind.
4. Wie bei allen diagnostischen Tests sollten die Ergebnisse im Kontext mit anderen, dem Arzt zur Verfügung stehenden Informationen, interpretiert werden.
5. Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X, die in homöopathischen Erkältungsmitteln der Marke Zicam® enthalten sind, stören den ***illumi**gene*-Strep Gruppe A-Assay.

LEISTUNGSMERKMALE

Der DNA-Amplifikationsassay ***illumi**gene Streptococcus* Gruppe A wurde 2012 durch unabhängige klinische Untersuchungsstellen in verschiedenen Regionen der USA bewertet. Zusammenfassende klinische Studiendaten sind nachstehend angeführt.

Tabelle 1. Zusammenfassung der Leistungsdaten für *illumigene* Strep Gruppe A**

Streptococcus *Gruppe A* Gemischte Kultur	***illumi**gene* Strep Gruppe A**		
	Positiv	**Negativ**	**Gesamt**
Positiv	100	2	102
Negativ	16	680*	696
Gesamt	116	682	798
			95 % VI
Sensitivität	100/102	**98,0 %**	93,1 – 99,5 %
Spezifität	680/696	**97,7 %**	96,3 – 98,6 %
Ungültige Ergebnisse	2/800	**0,3 %**	0,1 – 0,9 %

***** Zwei Proben lieferten anfänglich ungültige Ergebnisse und erwiesen sich bei der Testwiederholung als negativ. Insgesamt wurden 798 qualifizierte Proben mit dem Testgerät und Bakterienkultur-Mischmethoden bewertet.

Die mit der Methode für gemischte Kulturen durchgeführten Tests umfassten Tests mit der Kulturmethode der klinischen Einrichtung sowie Tests mit einer von Meridian Bioscience durchgeführten Referenzkulturmethode. Bei den Kulturtests der Einrichtung wurde die Rachenabstrichprobe direkt aufgebracht (direct plating), während bei den Referenzkulturtests das Abstrich-Transportmedium aufgebracht wurde. Proben, die entweder mittels der Kulturmethode der klinischen Einrichtung oder der Referenzkulturmethode Strep Gruppe A -positive Ergebnisse erzeugten, wurden als positiv angesehen.

In Tabelle 2 und Tabelle 3 sind die Leistungsdaten nach klinischer Einrichtung zusammengefasst. Die Daten der Einrichtung wurden auf Basis von Methoden für gemischte Kulturen und der Kulturmethode der Einrichtung ausgewertet. Sieben der 102 positiven Proben aus gemischter Kultur waren nur mit den Kulturmethoden der Einrichtung positiv; 26 der 102 positiven Proben aus gemischter Kultur waren nur mit der Referenzkulturmethode positiv; die beiden mit ***illumi**gene* falsch-negativen Ergebnisse waren nur mit der von Meridian Bioscience durchgeführten Referenzkulturmethode positiv. Die statistische Auswertung der Leistungsdaten für die Einrichtungen ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den angegebenen Einrichtungen.

Tabelle 2: Assayleistung des *illumigene* Strep Gruppe A nach Einrichtung; Methode für gemischte Kultur**

	Positive Proben			**Negative Proben**		
	***illumi**gene* **/gemischte Kultur**	**% Sensitivität**	**95 % VI**	***illumi**gene* **/gemischte Kultur**	**% Spezifität**	**95 % VI**
Gesamt	**100/102**	**98,0 %**	**93,1 - 99,5 %**	**680/696**	**97,7 %**	**96,3 - 98,6 %**
Einrichtung 1	47/47	100,0 %	92,4 - 100,0 %	287/291	98,6 %	96,5 - 99,5 %
Einrichtung 2	28/30	93,3 %	78,7 - 98,2 %	204/212	96,2 %	92,7 - 98,1 %
Einrichtung 3	25/25	100,0 %	86,7 - 100,0 %	189/193	97,9 %	94,8 - 99,2 %

Tabelle 3: Assayleistung des *illumigene* Strep Gruppe A nach Einrichtung; Kulturmethode der Einrichtung**

	Positive Proben			**Negative Proben**		
	***illumi**gene* **/Kultur der Einrichtung**	**% Sensitivität**	**95 % VI**	***illumi**gene* **/Kultur der Einrichtung**	**% Spezifität**	**95 % VI**
Gesamt	**74/74**	**100,0 %**	**95,1 - 100,0 %**	**682/724**	**94,2 %**	**92,3 - 95,7 %**
Einrichtung 1	40/40	100,0 %	91,2 - 100,0 %	287/298	96,3 %	93,5 - 97,9 %
Einrichtung 2	18/18	100,0 %	82,4 - 100,0 %	206/224	92,0 %	87,7 - 94,9 %
Einrichtung 3	16/16	100,0 %	80,6 - 100,0 %	189/202	93,6 %	89,3 - 96,2 %

Zweiundsiebzig (9,0 %) untersuchte Patienten waren zwei Jahre oder jünger; 385 (48,2 %) Patienten waren im Alter zwischen zwei und 12 Jahren, während 259 (32,5 %) älter als 12 Jahre aber jünger als 21 Jahre waren. Die restlichen 82 (10,3 %) Studienpatienten waren älter als 21 Jahre. Altersangaben waren für alle in die Leistungsauswertung eingeschlossenen Patienten bekannt. Es wurden keine Leistungsunterschiede aufgrund des chronologischen Alters festgestellt.

Die Studienpopulation umfasste 410 (51,4 %) weibliche Patienten und 386 (48,4 %) männliche Patienten. Das Geschlecht war bei zwei (0,2 %) Studienteilnehmern nicht bekannt. Es wurden keine geschlechtsspezifischen Leistungsunterschiede festgesetellt.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die analytische Sensitivität bzw. die Nachweisgrenze für den ***illumi**gene*- Strep Gruppe A -Assay wurde für häufige Stämme von *S. pyogenes* bestimmt.

Die Nachweisgrenze wurde unter Verwendung von mindestens 20 Replikaten jeder Messgröße und anhand einer angegebenen Wahrscheinlichkeit (z. B. 95 % bei 19/20 positiven Replikaten) für eine positive Reaktion bestimmt. Die Tests zur analytischen Sensitivität sind nachstehend zusammengefasst:

Beschreibung der Stämme von *Streptococcus pyogenes*	KBE/Test
ATCC 12344	400
ATCC 19615	430

ASSAY-REAKTIVITÄT
Die folgende Stämme von *S. pyogenes* wurden getestet und erzeugten mit dem ***illumi****gene* Strep Gruppe A bei oder unterhalb der angegebenen Nachweisgrenze des Assays von 400 KBE/Test positive Reaktionen: ATCC12384, NCIMB 13285, CCUG 33061, CCUG 33409, CCUG 39158, ATCC 49399, CCUG 53553.

REPRODUZIERBARKEIT
Verschlüsselte Panele von 10 Proben wurden drei unabhängigen Labors für Reproduzierbarkeitsstudien übergeben. Die Proben waren innerhalb jedes Panels nach dem Zufallsprinzip gereiht, um die Probenidentität zu maskieren. Die Panele enthielten künstliche Proben, die als schwach positive Proben (d. h. nahe der Nachweisgrenze des Assays, n=3) und stark negative Proben (n=3) hergestellt wurden. Die Panele enthielten auch künstliche positive (n=3) Proben und natürliche negative Proben (n=1). Die Tests wurden am selben Tag von verschiedenen Bedienern in jeder Einrichtung (Intra-Assay-Variabilität) fünf Tage lang (Inter-Assay-Variabilität) durchgeführt. In dieser Studie wurden drei Chargen von ***illumi****gene* Strep Gruppe A und fünf ***illumi****pro-10*-Instrumente eingesetzt. An jedem Testtag wurden die Positiv- und Negativkontrollen getestet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle unten angeführt:

	Klinische Einrichtung 1		Klinische Einrichtung 2		Klinische Einrichtung 3		Gesamt	
Probentyp	**Übereinstimmung in Prozent**		**Übereinstimmung in Prozent**		**Übereinstimmung in Prozent**		**Übereinstimmung in Prozent**	
Negativ	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %
Stark negativ	29/30	96,7 %	30/30	100 %	28/30	93,3 %	87/90	96,7 %
Schwach positiv	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %
Positiv	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %
Negativ-kontrolle	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %
Positiv-kontrolle	10/10	100 %	10/10	100 %	10/10	100 %	30/30	100 %

KREUZREAKTIVITÄT
Kreuzreaktivitätsstudien wurden mit positiven und negativen Proben, die mit bakteriellen oder mykotischen Organismen inokuliert waren (Endkonzentration 1,2 x 10^8 KBE/mL), durchgeführt. Humane DNA wurde bei 0,02 mg/mL getestet und es wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet. Keiner der folgenden Organismen reagierte mit ***illumi****gene* Strep Gruppe A:
Acinetobacter baumannii, Acinetobacter lwoffii, Aeromonas hydrophila, Arcanobacterium haemolyticum, Bordetella bronchiseptica, Bordetella holmesii, Bordetella parapertussis, Bordetella pertussis, Burkholderia cepacia, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Corynebacterium diphtheria, Corynebacterium pseudodiphtheriticum, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Legionella jordanis, Legionella micdadei, Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes, Moraxella catarrhalis, Morganella morganii, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Stenotrophomonas maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus anginosus, Streptococcus bovis, Streptococcus canis, Streptococcus dysgalactiae (Subspezies equisimilis), Streptococcus equinus, Streptococcus intermedius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus salivarius, Streptococcus suis, Streptococcus uberis, Streptococcus sp. (viridans).

Zwei Organismen erzeugten während der anfänglichen Tests unerwartete Ergebnisse, die in weiteren Tests nicht bestätigt wurden. *Arcanobacterium haemolyticum* erzeugte in einem von 13 getesteten Replikaten fasch-negative Ergebnisse. *Haemophilus influenzae* erzeugte in einem von 13 getesteten Replikaten fasch-positive Ergebnisse.

Mycoplasma pneumoniae wurde bei 1,5 x 10^6 KBE/mL ohne Reaktion im ***illumi****gene*-Strep Gruppe A-Assay getestet.

STÖRSUBSTANZEN-TESTS
Zur Untersuchung auf Störsubstanzen wurden potenzielle Störsubstanzen, die in steriler Kochsalzlösung oder künstlichen positiven Proben verdünnt waren (ATCC 12344, ATCC 19615), dem ***illumi****gene* **SMP PREP** beigegeben. Mit negativer Rachenflora und Liquid Amies Transport Media inokulierte Rayon-Tupfer wurden dem potenzielle Störsubstanzen enthaltenden ***illumi****gene* **SMP PREP** beigegeben und getestet.

Die folgenden biologischen Substanzen stören in den angegebenen Lösungsmittel-/Verdünnungsmittel-Sättigungskonzentrationen die Testergebnisse nicht: Mucus (5,0 mg/mL), humaner Speichel (10 % v/v) und Vollblut (2,5 % v/v). In Konzentrationen über 2,5 % v/v kann Vollblut den ***illumi****gene*-Strep Gruppe A-Assay stören.

Die folgenden chemischen Substanzen stören in den angegebenen Lösungsmittel-/Verdünnungsmittel-Sättigungskonzentrationen die Testergebnisse nicht:
Acetaminophen (19,5 mg/mL), Aspirin (12,3 mg/mL), Mundspülung Cepacol® Mouthwash, [Cetyopridiniumchlorid (0,005 % v/v)], Halstabletten Cepacol® Sore Throat Lozenges [Benzocain (0,09 mg/mL), Menthol (0,02 mg/mL)], orales Anästhetikum/Analgetikum Chloraseptic® Oral Anesthetic/Analgesic [Phenol (0,07 % v/v)], Erkältungs- und Grippetabletten Contac® Cold + Flu Tablets [Acetaminophen 16,2 mg/mL), Chlorpheniraminmaleat (0,06 mg/mL), Phenylephrin-HCl (0,16 mg/mL)], Zahnpasta Crest® Complete Toothpaste [Natriumfluorid (0,1 mg/mL)], Diphenhydramin-HCl (2,7 mg/mL), Hustenbonbons HALLS® Cough Drops [Menthol (0,08 mg/mL)], Ibuprofen (15,6 mg/mL), antiseptische Mundspülung Listerine® Antiseptic Mouthwash [Eucalyptol (0,0092 % v/v), Menthol (0,0042 % v/v), Methylsalicylat (0,0060 % v/v), Thymol (0,0064 % v/v), Hustensirup Robitussin® Cough/Chest Congestion Cough Syrup [Dextromethorphan-HBr (0,2 mg/mL), Guaifenesin (2,0 mg/mL)].

Mundspray Zicam® Oral Mist [Zincum Aceticum 2X, Zincum Gluonicum 1X (0,625 % v/v)] erzeugte in allen getesteten Replikaten ungültige Ergebnisse.

REFERENCES

1. Nagamine, K., Hase, T., Notoni, T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplifications using loop primers. Mol Cell Probes 2002;16:223-29.
2. Mori, Y., Kitao, M., Tomita, N., Notoni, T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantitating template DNA. J Biochem Biophys 2004;59:145-47.
3. Choby, B.A. Diagnosis and treatment of Streptococcal Pharyngitis. Am Fam Phys: 2009; 79(5):383-90.
4. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Group A Streptococcal Disease. www.cdc.gov; 2008.
5. American Academy of Pediatrics. *Red Book: 2012 Report of the Committee on Infectious Diseases*. Pickering LK, ed. 29th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2012.US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007.
6. CLSI: MM3-A2 Molecular diagnostic methods for infectious disease; approved guideline, 2nd ed. Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute. 2006.

CE

SN11187 **REV. 09/12**

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
USA/Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244
Telephone: (513) 271-3700
Orders/Customer Service:
(800) 543-1980
Technical Support Center:
(800) 343-3858
Information Fax:(513) 272-5432
Ordering Fax:(513) 271-0124

EC REP
Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe
Via dell' Industria, 7
20020 Villa Cortese (MI)
Italy
Tel.: +39 0331 433636
Fax: +39 0331 433616
e-mail: info@mdeur.com

Meridian Bioscience Europe s.a. / n.v.
Rue de l'Industrie 7
1400 Nivelles
Belgium
Tel.: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
e-mail: info@mdeur.be

Meridian Bioscience Europe b.v.
Halderheiweg 6
5282 SN Boxtel
The Netherlands
Tel.: +31 (411) 621166
Fax: +31 (411) 624841
e-mail: meridian.info@planet.nl

Meridian Bioscience Europe France
34, rue de Ponthieu
75008 Paris
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
e-mail: info@meridianbioscience.fr

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product.

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symbols, Guia de simbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL −	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
CE	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünngspuffer befindet
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	RoHS	Restriction of Hazardous Substances / Restrizione all'uso di sostanze pericolose / Limitation de substances dangereuses / Restricción de Substancias Nocivas / Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		Caution, consult accompanying documents / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Attention voir notice d'instructions / Atención, ver instrucciones de uso / Achtung, Begleitdokumente beachten
Σ	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung		ETL Registered Mark Certified / Marchio di certificazione registrato a livello nazionale / Certifié Conforme ETL / Marca de Certificación Registrada Nacional / ETL Konform beglaubigt
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer		Recycle – do not dispose of as general waste / Riciclare – non eliminare come rifiuto generico / Recycler – ne pas jeter dans une poubelle / Recicle – no deseche como basura general / Recycling- dieses Produkt nicht über den Hausmüll entsorgen
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	HT TUBE	Heat Treatment Tube / Provetta per il Trattamento termico / Tube pour le traitement thermique / Tubo de tratamiento de calor / Röhrchen zur Hitzebearbeitung
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD reservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	LASER RADIATION: Avoid Exposure to Beam / RADIAZIONE LASER: Evitare l'esposizione al raggio / RAYONNEMENT LASER: Eviter toute exposition au faisceau / Radiación Laser: Evite Exposición a los Rayos / LASERSTRAHLUNG: Direkten Kontakt mit dem Strahl vermeiden		HOT SURFACE: Keep hands Away from Hot Surfaces / Superficie calda: tenere le mani lontane dalle superfici calde / SURFACES CHAUDES: Ne pas toucher les surfaces chaudes / Superficie Caliente: Mantenga las manos alejadas de la superficie caliente / Heiße Oberfläche: Kontakt mit heißen Oberflächen vermeiden
CAUTION	CAUTION: Laser Radiation / ATTENZIONE: Radiazione Laser / AVERTISSEMENT: Rayonnement laser / Precaución: Radiación Laser / WARNUNG: Laserstrahlung	IPX-0	CAUTION: Protect from water / ATTENZIONE: Proteggere dall'acqua / AVERTISSEMENT: Protéger de l'humidité / Precaución: Proteja del agua / WARNUNG: Vor Feuchtigkeit schützen
	CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risikogefahr	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer	MIN OIL	Mineral Oil / Olio Minerale / Huile Minérale / Aceite Mineral / Mineralöl
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
ST TUBE	Screw Top Tube / Provetta con tappo a vite / Tube à bouchon vissé / Tubo con tapa de rosca / Röhrchen mit Schnappverschluss	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.